دانشگاه آزاد اسلامی

واحد علوم و تحقیقات

رساله دکتری(Ph.D) رشته شیلات

موضوع

ارزیابی و مقایسه اثر ازون، پراکسید هیدروژن و تیمار فیزیکی در پیشگیری آلودگی قارچی و میزان تخم گشائی تاسماهی ایرانی(قره برون) *Acipenser persicus*

استادان راهنما

دکتر عباس اسماعیلی ساری - دکتر غلامحسین وثوقی

استادان مشاور

دکتر امین کیوان - دکتر رجب محمد نظری

نگارش

محمدرضا قمی مرزدشتی

سال تحصیلی ۱۳۸۳

بخش پایان نامه

شماره ثبت: ۹۱۰۰

تا ۸۴۶۱۷

فهرست

عنوان صفحه

مقدمه ۲

فصل اول: کلیات ۴

۱-۱ خصوصیات قارچ‌های آبزی ۴

۱-۲ پژوهش های انجام شده در رابطه با روش‌های کنترل قارچ در آبزی پروری ۷

۱-۳ خواص ازون، کاربری های ازون و تولید ازون ۱۴

فصل دوم: روش تحقیق و مواد ۱۸

۲-۱- محیط و شرایط آزمایشی ۱۸

۲-۲- کنترل برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب ۲۰

۲-۳- تولید و انتقال گاز ازون به آب ۲۳

۲-۴- اندازه گیری غلظت ازون محلول ۲۹

۲-۵- مشخصات تیمارهای آزمایش ۳۱

۲-۶- روش های آماری مورد استفاده ۳۴

فصل سوم: نتایج ۳۵

۳-۱- نتایج سال اول ۳۵

۳-۲- نتایج سال دوم ۳۷

۳-۳- مقایسه نتایج سالهای اول و دوم ۴۲

فصل چهارم: بحث ۴۸

منابع مورد استفاده ۶۵

خلاصه

ازون بعلت داشتن نیمه عمر پائین و عاری بودن از عوارض سوء زیست محیطی، بعنوان یکی از مطلوب ترین مواد گندزدا و کنترل کننده قارچ در آبزی پروری شناخته شده است. هدف این تحقیق، بررسی و مقایسه قابلیت تیمار ازوناسیون لحظه ای (با زمان تماس ۱۰ دقیقه)، تیمار پراکسید هیدروژن و همچنین تیمار فیزیکی(برداشت تخم های مرده و قارچ زده به مدت ۵ بار در روز) در افزایش میزان تخم گشایی ماهی قره برون(*Acipenser persicus*) است. سه غلظت ppm ۰/۱۵ و ۰/۱ و ۰/۰۵ ازون با مکانیسم تزریق لحظه‌ای و همچنین دو غلظت ppm ۱۰۰۰ و ۵۰۰ پراکسید هیدروژن در دو حالت همراه با تیمار فیزیکی وبدون تیمار فیزیکی بر روی میزان تخم گشایی تاسماهی ایرانی(قره برون) آزمایش شده است. در سال اول آزمایش، غلظت ppm ۰/۱ ازوناسیون تخم ها بهمراه تیمار فیزیکی، بالاترین میزان تخم گشایی (۸۱/۴٪) را حاصل داده است. در سال دوم آزمایش، پراکسید هیدروژن با غلظت ppm ۱۰۰۰ بهمراه تیمار فیزیکی منجر به بالاترین میزان تخم گشائی(۷۸٪) گردید. میانگین میزان تخم گشائی تیمار شاهد(بدون گندزدائی و بدون تیمار فیزیکی) در دو سال ۳۲/۷٪ است. به لحاظ اقتصادی، غلظت ppm ۰/۰۵ ازون با تیمار فیزیکی، با داشتن بطور متوسط ۷۶/۸٪ تخم گشایی (در سالهای اول و دوم) بدلیل به حداقل رسیدن چشمگیر مصرف انرژی و هزینه نگهدای سیستم ازوناسیون، بعنوان بهترین تیمار کنترل کننده قارچ در میان تیمارهای ازون بحساب می‌آید. بین میزان درجه حرارت آب کارگاه و درصد قارچ زدگی تخم ها در تیمار شاهد، همبستگی بسیار ضعیفی(۰/۱۴- =r) مشاهده گردید.

شورای واحد علوم و تحقیقات
تحقیقات پایان نامه

مقدمه

با تهدیدهای روز افزون بشر بر محیط زیست، تخریب محیط های آبی و جوامع موجودات زنده نیز با سرعت بالایی در حال انجام می‌باشد. محیط زیست طبیعی دریای خزر و رودخانه های مرتبط با آن و همچنین ماهیان خاویاری موجود در آنجا نیز مشمول این واقعه بوده است. اگر تدابیر خاصی جهت مقابله با عوامل مخربی چون آلودگی های نفتی، فاضلاب های صنعتی، کشاورزی و خانگی، نابودی بستر و محیط رودخانه های مرتبط (توسط احداث پل، سد، برداشت شن و ماسه)، صید بیش از حد و افراطی از ذخایر صورت نگیرد، در آینده نزدیک می‌توان شاهد انقراض نسل این ماهیان ارزشمند و سایر ماهیان دریای بسته خزر بود.

یکی از راههای مقابله با کاهش ذخایر موجود، تکثیر مصنوعی مولدین در کارگاهای تکثیر می باشد که از وظایف متخصصین شیلاتی محسوب می گردد. بدین لحاظ انجام دقیق شرایط بهینه تکثیر و مسائل مرتبط با آن، در موفقیت تولید لارو و بچه ماهی سالم جهت رهاسازی به دریا و افزایش تولید از نکات اولیه و تفکیک ناپذیر محسوب می‌گردد. رسیدن به نقاط ایده آل در جزء جزء مسائل مدیریتی مرتبط با تکثیر بنابرتجارب تدریجی کار در طول سالیان متمادی و همچنین انجام تحقیقات منظم و کاربردی در آزمون نمودن مواد و روش های گوناگون در این کار استوار است.

در کنار هم قرار دادن دو مؤلفه افزایش تولید تخم ولارو تاسماهی ایرانی (قره برون) و کاهش زیانهای وارده به تخم و لارو آن و همچنین به محیط زیست بعنوان مبنای پروژه حاضر بوده است. بدین منظور از ۲ ماده ازون و پراکسید هیدروژن جهت ارتقای تولید تخم استفاده شده است که هر دوی آنها بعد از طی زمان کوتاهی تبدیل به اکسیژن معمولی می‌شوند و از این بابت هیچگونه عوارض زیست محیطی را در بر ندارند. ارزیابی و مقایسه کارایی این دو ماده در ارتقای میزان تخم گشایی قره برون بعنوان اولین هدف این پروژه بوده است.

روش تزریق لحظه ای یا دائمی ازون بستگی به مدیریت پرورش دارد(Brazil et al., 1996)، و از آنجائیکه Wedemeyer و همکاران (1979) غلظت ۰/۰۳ ppm ازون بصورت تزریق دائمی را مناسب مبارزه قارچ ساپرولگنیا می‌دانند، از این بابت میزان مصرف ازون در طول شبانه روز بسیار بیشتر از تزریق لحظه ای می‌گردد. به جهت آنکه تجهیزات ازوناسیون گران هستند و تزریق ازون در پائین ترین سطح مؤثر ضرورت دارد (Summerfelt et al., 1997)، هدف دیگر این پروژه، ازوناسیون تخم های ماهی قره برون در حالت تزریق لحظه ای (۱۰ دقیقه در روز) بجای تزریق شبانه روزی است تا میزان تزریق و مصرف ازون به حد بسیار زیادی کاهش یابد.

همچنین از آنجائیکه روش اصلی کنترل قارچ تخم ها، برداشت فیزیکی تخم های مرده و قارچ زده در فواصل زمانی معین بهمراه استفاده از حمام های شیمیایی است (Bruno & Wood ,1999)، در این تحقیق، مقایسه میزان تخم گشایی حاصل از دو روش تیمار شیمیایی تخم (توسط ازون یا پراکسید هیدروژن) بهمراه تیمار فیزیکی (جمع آوری تخم های مرده وقارچ زده) و تیمار شیمیایی تخم بدون تیمار فیزیکی در دوره انکوباسیون تخم ماهی قره برون بعنوان هدف دیگر مورد نظر می‌باشد.

فصل ۱- کلیات

۱-۱- خصوصیات قارچ‌های آبزی (Water moulds)

تخم ماهیان مورد تکثیر، به لحاظ داشتن مقادیر بالای مواد غذایی در خود، مورد علاقه قارچ‌های ساپروفیتی می‌باشند که از آن بعنوان یک منبع غذایی مناسب استفاده کرده و نیازهای غذایی خود را تأمین می‌کنند. آلودگی‌های قارچی ماهی توسط اوومیست‌ها[۱] ایجاد می‌شود که شامل ۴ راسته *Lagenidiales*, *Saprolegniales* , *Leptomitales* و *Peronosporales* هستند که مهمترین راسته در میان آنها *Saprolegniales* هستند که خانواده *Saprolegniaceae* از آن منشعب شده و دارای بیشترین تعداد جنس و گونه می‌باشند که توسط Neish & Hughes (1980) مورد اشاره واقع شده‌اند. در خانواده *Saprolegniaceae* جنس‌های *Saprolegnia* , *Achlya* ، *Aphanomyces* نیز بعنوان مهمترین جنس‌های مرتبط با آبزی پروری مطرح می‌باشند (Hatai & Hoshia , 1993 ; Bly et al., 1994). اوومیست‌ها دارای هر دو چرخه زندگی جنسی و غیرجنسی می‌باشند (Noga, 1993). تکثیر جنسی شامل تولید آنتریدیوم [۲] و اووگونیوم[۳] است و از ترکیب آنها اووسپور[۴] تولید می‌شود و سپس میسلیوم[۵] تشکیل می‌شود و در تکثیر غیرجنسی عموماً زئوسپورها[۶] تولید می‌شوند و رویش آنها باعث تولید هیفا[۷] شده که می‌توانند بصورت میسلیوم توسعه یابند (Bruno & Wood,

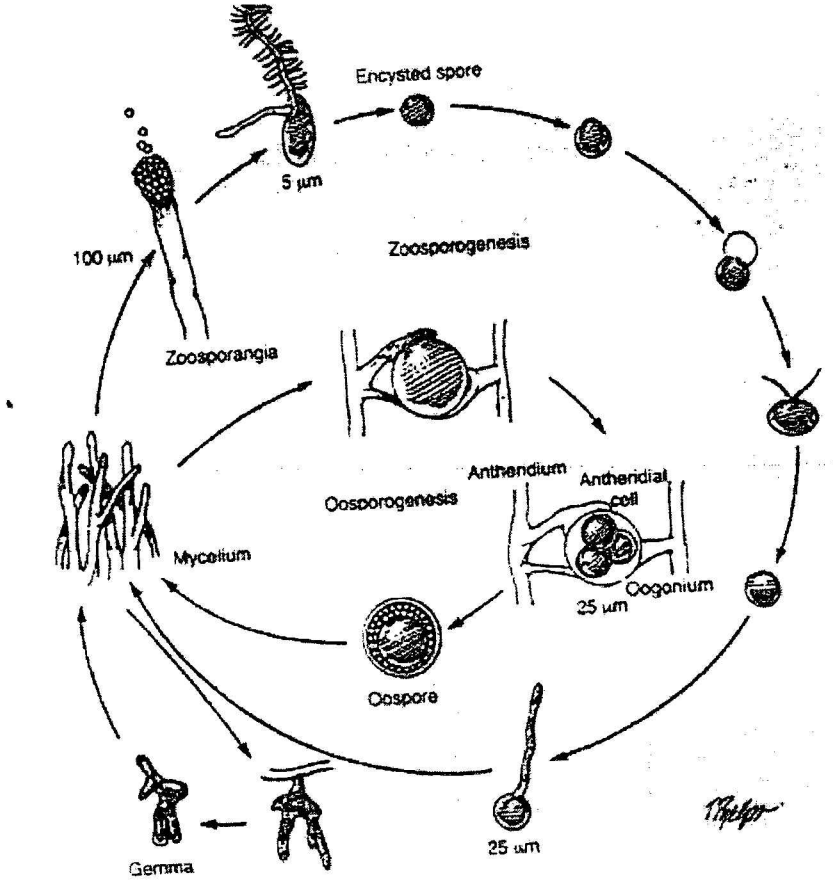
۱- Oomycete
۲- Antheridium
۳- Oogonium
٤- Oospore
٥- Mycelium
٦- Zoospore
۷- Hyphae

بخش پایان نامه

1999). چرخه زندگی ساپرولگنیا و دیگر قارچ های آبزی کـه توسـط Neish & Hughes (1980) توصیف شده است در شکل ۱ ارائه می‌گردد.

در تکثیر غیر جنسی زئوسپورها به دو دسته زئوسپورهای اولیه و ثانویه تقسیم می‌شوند و بنابر نظر Bruno & Wood (1999) زئوسپورهای ثانویه یکـی از مهمتـرین مراحـل پـراکنش چرخـه زنـدگی ساپرولگنیا بشمار می‌روند و عامل اصلی عفونت قارچی می‌باشند.

جهت مطالعه و شناسایی قارچ، انتقال مستقیم میسلیوم قارچ از تخم ماهی به درون یک محیط کشت آگار انجام می‌گیرد (Neish, 1975). به جهت فقدان ساختار جنسی تولید شده تحت شرایط کشت قارچ، شناسایی دقیق گونه قارچ خیلی مشکل است(Pickering & Willoughby, 1982).



شکل ۱- چرخه زندگی ساپرولگنیا و دیگر قارچ‌های آبزی برگرفته از Neish & Hughes (1980)

شنبه خانه دانشگاه علوم و تحقیقات
بخش پایان نامه

شناسایی قارچها بطور عمده بر مبنای خصوصیات میکرومورفولوژی و هاگزایی آنها استوار است(Seymour, 1970 ;Willoughby, 1978). اخیراً از تکنیکهای PCR جهت شناسایی سریع گونه‌های ساپرولگنیا استفاده می‌گردد (Dieguez-Uribeondo et al., 1996). بنا بر نظر آذری(۱۳۷۶) اصطلاح ساپرولگنیازیس بدون تشخیص درست گونه های آن بکار برده می شود.

اینگونه به نظر می‌رسدکه چسبیدن ساپرولگنیا به غشای تخم شامل تولید یک مادهٔ غیر فیبری توسط قارچ باشد (Beakes, 1983). ریسه[1] چسبیده شده به قارچ بطور محکمی متصل به سطح تخم می‌گردد (Rand & Munden, 1993a). مدت کوتاهی بعد از تماس، اسپورها و ریسه‌های جوان بر روی تخم ماهی قابل تثبیت شدن هستند. توسعه ریسه‌ها و پراکنش و نفوذ آنها بدرون تخم بعنوان مهمترین فاکتورها جهت پایه گذاری عفونت در کارگاههای تکثیر محسوب می‌شوند (Bruno & Wood,1999). طی ۱ تا ۲۴ ساعت پس از زمان تماس، سطح تخم از رشته‌های ریسه‌ای پوشیده می‌شود و توسعه آن گاهی اوقات با حمله به غشای کوریونیک تخم همراه است. بعد از طی ۲۴ ساعت از زمان آلودگی، پوشش میسلیومی ضعیف تا متوسطی سطح تخم را می‌پوشاند. بنا بر نظر (1993a) Rand and Munden تخم‌های مرده بطور ویژه حساس به قارچ می‌باشند و عفونت ممکن است بسرعت بسوی تخم‌های زنده گسترش یابد. مواد غشای کوریونیک تخم بعنوان فاکتورهای تحریک کننده گرایش شیمیایی[2] مثبت زئوسپور بطرف تخم های زنده ارزیابی شده‌اند(Rand & Munden, 1993b). گرایش شیمیایی مثبت برای اسیدهای آمینه آرژنین و آلانین مشاهده شده است. این مطالعات دلالت بر این امر دارند که گرایش شیمیایی ممکن است یک نقش مهم را در جذب زئوسپورهای *Saprolegnia diclina* بسمت تخم‌های زنده آزاد ماهیان ایفاء نماید. از اینرو Rand & Munden (1993b) معتقدند که بکارگیری مواد ضد گرایش شیمیایی[3] ممکن است در توسعه فرایند کنترل یا ریشه کن سازی ساپرولگنیا برای تخم آزاد ماهیان در کارگاههای تکثیر مفید واقع شود.

مرکز تحقیقات واحد علوم و تحقیقات
بخش پایان نامه

۱- Thalli
۲- Chemotaxis
۳- Chemoattractant

۱-۲ پژوهش های انجام شده در رابطه با روش‌های کنترل قارچ در آبزی پروری

تحقیقات زیادی در رابطه با مواد و روش‌های مختلف کنترل قارچ‌های نابود کننده تخم ماهی صورت گرفته است. توصیه شده است که میانگین فعالیت هر ماده شیمیایی قارچ کش می‌باید سه بار اندازه‌گیری شود و با میزان اثربخشی مالاشیت گرین مقایسه گردد (Bailey, 1983). البته گفتنی است که در بسیار ی از کشورها استفاده از مالاشیت گرین بدلیل داشتن عوارض سوء بیشماری که دارد ممنوع شده است و می‌باید از ماده جایگزین دیگری بعنوان مبنای مقایسه استفاده گردد. همچنین به لحاظ تئوری ، قارچ‌کش‌های انتخاب شده می‌باید رشد قارچی را در محیط‌های آبی تا حداقل ۴۸ ساعت کنترل کنند(Bailey, 1983). بنا بر نظر Bruno & Wood (1999) تحقیقات بیشتری در زمینه مطالعه مواد قارچ کش در آبزی پروری می‌باید انجام گیرد. در هر حال، تحقیقات صورت گرفته در رابطه با مواد و روش‌های قارچ کشی در آبزی پروری در ذیل مرور می‌گردد:

۱-۲-۱- مالاشیت گرین

از قدیمی ترین و پرکاربردترین سموم قارچ کش در آبزی پروری محسوب می‌گردد. بنا بر نظر Bailey (1983) و Marking و همکاران (1994 a,b) غلظت کنترل کننده ساپرولگنیا توسط این ماده بر روی تخم ماهی با داشتن حداقل میزان مرگ و میر تخم بین ۳ و ۵ ppm برای ۶۰ دقیقه زمان تماس می‌باشد. Cline & Post (1972) گزارش نمودند که غلظت ۲ ppm از مالاشیت گرین اثر قارچ‌کشی دارد. در طول زمان تماس مداوم مالاشیت گرین در کارگاههای تکثیرماهی با غلظت ۰/۲۵ppm زئوسپورها کشته می‌شوند و از رشد هیفای قارچ نیز جلوگیری می‌گردد (Willougby & Roberts, 1992). مطالعات زیادی بر روی خواص جهش زایی مالاشیت گرین انجام شده است (Fernandes et al., 1991; Clemmensen et al., 1984). Meyer&Jorgenson (1983) گزارش دادند که ناهنجاری‌هایی در باله‌ها، سر، دم و ستون فقرات بچه ماهیان نورس قزل آلا حاصل از

بخش پایان نامه

تخم‌هایی که در معرض مقادیر استاندارد و مکرر مالاشیت گرین بودند، حاصل شده است. همچنین اثرات تخریب ژنی[1] مالاشیت گرین بر روی تخم ماهی توسط Schwaiger و همکاران (1995) مطالعه شده است. بررسی کروموزومی نشان داده است که شکستگی و اتصالات ناخواسته کروموزومی در نتیجه استفاده از ۰/۲۵ppm از مالاشیت گرین برای ۴۸ ساعت ایجاد می‌گردد (Schwaiger et al., 1995). به رغم موفقیت‌های فراوان در استفاده از مالاشیت‌گرین بعنوان قارچ کش ماهی، محدودیت‌هایی در استفاده از آن وجود دارد (Srivastava, 1987). به جهت دارا بودن اثرات جهش زایی و ایجاد نارسایی جنینی در استفاده از مالاشیت گرین ، بکارگیری آن در کشورهای زیادی غیرقانونی و ممنوع می‌باشد (Hatai & Willoughby, 1988; Fernandes et al., 1991).

۱-۲-۲- فرمالین

فرمالین که در بردارنده ۳۷٪ فرمالدئید در خود است نیز از جمله موادی است که بطور گسترده در مبارزه با عفونت‌های قارچی در آبزی پروری استفاده می‌شود (Walser & Phelps,1993). استفاده از فرمالین نیز همراه با مشکلات زیست محیطی ناشی از آن است و مطابق گزارش سازمان بهداشت ایالات متحده (1994)، فرمالین دارای اثرات سرطانزایی برای انسان است. بنا بر گزارش Marking و همکاران (1994a) استفاده از فرمالین در قارچ‌کشی تخم ماهی در آمریکا محدود شده است. Marking و همکاران (1994a) معتقدند که غلظت ۲۵۰ ppm فرمالین از عفونت قارچی بر روی تخم ماهی جلوگیری می‌کند و در غلظت ۱۰۰۰ ppm فرمالین نیز افزایش در میزان تخم گشایی مشاهده شده است. بنا بر نظر Bly و همکاران (1996) فرمالین با غلظت۱۲/۵ ppm از تولید زئوسپور ساپرولگنیا ممانعت به عمل می‌آورد. Walser & Phelps (1993) گزارش دادند که افزایش در میزان تخم گشایی (تا ۹۳/۷٪) تخم های گربه ماهی نسبت به تخم‌های غیرتیمار شده، با استفاده از ۴۰۰ ppm فرمالین دو بار در روز حاصل می‌گردد. هر چند مطالعات دیگر، غلظت‌های پائین‌تری از فرمالین(ppm

---

۱- Genotoxic

۲۵۰) را مؤثر بر قارچ کشی تخم ماهی می‌دانند (Rogers, 1958; Meyer & Schnick, 1989). Huet (1994) بکارگیری روزانه ۱۵ دقیقه از فرمالین را جهت متوقف ساختن رشد قارچی درانکوباسیون تخم‌های قزل آلا مؤثر می‌داند. Forneris و همکاران (2003)، غلظت ppm۲۰۰۰-۱۰۰۰از فرمالدئید را برای نابودی ساپرولگنیا با زمان تماس ۱۵ دقیقه مورد استفاده قرار دادند و افزایش قابل توجهی در تخم گشایی (۷۴/۷٪) نسبت به تیمار شاهد (بدون گندزدایی) حاصل گردید. Schreier و همکاران (1996) غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ ppm از فرمالین را به مدت ۱۵ دقیقه، مناسب جهت افزایش درصد تخم گشایی قزل آلای رنگین کمان تشخیص دادند. شفیع زاده (۱۳۸۱) اثر سه داروی پرمنگنات پتاسیم، مالاشیت گرین و فرمالین را جهت مبارزه با قارچ ساپرولگنیا در تاسماهی ایرانی (قره برون) بعد از ساعت سی ام لقاح مورد آزمایش قرار داد و دریافت که فرمالین بعنوان غیر سالم ترین دارو در مبارزه با این قارچ در مقایسه با دو داروی دیگر مطرح می باشد و پرمنگنات پتاسیم نیز بعنوان سالم ترین دارو در بین آنها محسوب میگردد. همچنین در مطالعه سادات اخوی (۱۳۷۲) پر منگنات پتاسیم به عنوان بهترین داروی ضد قارچ برحسب درصد لاروآوری و فرمالین به عنوان ضعیفترین دارو مطرح شد.

۱-۲-۳- پراکسیدهیدروژن

پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) یک قارچ کش مهم در پرورش ماهی است که دارای عوارض کم زیست محیطی می‌باشد (Schreier et al., 1996). پراکسید هیدروژن با آزادسازی رادیکال اکسیژن در محیطهای آبی، موجب ایجاد اثرات قارچ کشی می‌گردد. رادیکال اکسیژن مذکور در صورت پاکیزگی آب از مواد آلی و شیمیایی، بعد از طی زمانی تبدیل به اکسیژن معمولی می‌گردد و از اینرو در اینگونه آبها تنها اکسیژن و آب محصول نهایی پراکسیدهیدروژن هستند. در صورت وجود مواد آلی، رادیکال اکسیژن با آنها واکنش داده و مواد مضری چون اپوکسیدها و غیره تولید می‌شوند که آلاینده محیط و تخم می‌باشند. محققین متعددی از جمله Dawson و همکاران (1994)، Marking و همکاران(1994a)،

Waterstrat & Marking (1995) و Schreier و همکاران(1996) سود بخشی پراکسیدهیدروژن را جهت کنترل ساپرولگنیا در تخم آزاد ماهیان گزارش نموده‌اند. Lovetro (1998) نیز نتایج مناسبی را در قارچ کشی مؤثر پراکسیدهیدروژن در تخم آزاد ماهیان بدست آورد. Rath و همکاران (1997) بر روی اثر نوع گونه ماهی، مراحل زندگی و درجه حرارت آب بر میزان سمیت پراکسیدهیدروژن در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۵۰۰۰ ppm مطالعاتی را انجام داده‌اند. وهاب زاده (۱۳۸۲) اثر غلظت‌های ۵۰۰ تا ۹۰۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه را بر روی میزان تخم‌گشایی تاسماهی ایرانی (قره برون) مورد آزمایش قرار داده است. غلظت ۵۰۰-۲۵۰ ppm پراکسیدهیدروژن با زمان تماس ۱۵ دقیقه هر یک روز در میان از گسترش عفونت قارچی بر روی تخم‌های سالم جلوگیری می‌نماید (Dawson et al., 1994). هر چند اشاره شده است که غلظت ۱۰۰۰ppm از آن جهت کنترل عفونت در زمانیکه ۱۰٪ تخم‌ها آلودگی می‌یابند ضرورت دارد. مطابق نظر Marking و همکاران (1994a)، ساخت ترکیبی از پراکسیدهیدروژن ۲۰٪ و اسیدپراستیک[1] ۵٪ در غلظت ۱۰۰ppm در مدت زمان تماس ۶۰ دقیقه مؤثر بر کاهش عفونت قارچی در تخم‌های قزل آلای رنگین کمان و نتیجتاً افزایش نرخ تخم گشایی است.

۱-۲-۴- سدیم کلراید

استفاده از سدیم کلراید (Nacl) در دهه ۱۹۴۰ توسط استفاده از حمام نمک ۵۰۰۰ppm برای کنترل قارچ در تخم گربه ماهی پیشنهاد گردید (Cranfield, 1947). افزایش قابل توجهی در موفقیت تخم گشایی تخم گربه ماهی با استفاده از حمام دائمی نمک آب دریا در غلظت ۲۵-۱۰ هزار ppm تا زمان تخم گشایی حاصل گردید (Phelps & Walser, 1993). در آن تحقیق مشخص گردید که غلظت ۲۵-۵ هزار ppm نمک منجر به ۷۹/۴٪ تخم گشایی شده است، در حالیکه میزان تخم گشایی تخم‌های غیر تیمار شده به میانگین ۵۷/۶٪ تنزل یافته است. البته در مقابل (1995) Waterstrat & Marking گزارش دادند که غلظت ۱۵۰۰۰ppm از نمک قادر به کنترل مؤثر عفونت

۱- Peracetic acid

قارچی بر روی تخم Chinook salmon (*Onchorhynchus tshawytscha*) نبوده است. در غلظت ۱۷۵۰۰ppm نمک، رشد قارچ در حد متوسط بود و در غلظت نمک ۳۵۰۰۰ppm، رشد قارچ بطور کامل متوقف گردید. هر چند در این تحقیق غلظت ۳۰۰۰۰ppm از نمک، مؤثر بر کنترل عفونت قارچی بود ولی استفاده از مقادیر بالای نمک در دوران ۳۵ روزه انکوباسیون تخم این ماهی و همچنین افزایش آشکار در میزان مرگ و میر تخم‌ها از عوامل محدود کننده استفاده از مقادیر بالای نمک در کارگاههای تکثیر عنوان گردید. Schreier و همکاران (1996) غلظت ۳۰۰۰۰ppm از سدیم کلراید را برای افزایش درصد تخم گشایی قزل آلای رنگین کمان مؤثر دانستند ولی بیان داشتند که سدیم کلراید در مقایسه با تیمارهای پراکسیدهیدروژن و فرمالین دارای قابلیت پائین تری در بازداشتن رشد قارچی می‌باشد. مقادیری از کلسیم کلراید در ترکیب با سدیم کلراید نیز جهت کنترل آلودگی قارچی تخم ماهی توسط Edgell و همکاران (1993) آزمایش گردید. همچنین Taylor & Bailey (1979) موفق به کنترل *Saprolegnia diclina* در تخم قزل‌آلای صورتی(*Onchorhynchus gorbuscha*) با استفاده از آب دریا شدند. بهرحال، برخی محققین اشاره می‌نمایند که مقادیر زیاد نمک مورد نیاز جهت ضد عفونی، فوائد این روش را محدود می‌سازد.

۱-۲-۵- یدوفورها

قابلیت قارچ کشی یدین برای تخم قزل آلای رنگین کمان توسط Marking و همکاران (1994a) و برای تخم گربه ماهی توسط Walser & Phelps (1993) آزمایش شده است. استفاده از یدین بصورت دوبار در روز با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm میزان تخم گشایی گربه ماهی را نسبت به تخم‌های تیمار نشده افزایش داده است. در این تحقیق غلظت ۲۰۰ppm یدین تخم گشایی را به میزان ۲۸٪ نسبت به تیمار شاهد افزایش داده است. استفاده از یدین جهت گندزدایی تخم تا غلظت ۱۰۰ppm و زمان تماس ۱۰ دقیقه در امریکا و دیگر کشورها مجاز محسوب می‌گردد (Marking et al., 1994b).

۱-۲-۶- ازون

نخستین تحقیق منتشر شده بر روی قابلیت نابودی قارچ ساپرولگنیا در تخم قزل‌آلای رنگین کمان توسط Benoit & Matlin (1966) صورت گرفت و افزایش در میزان تخم گشایی تا میزان ۸۴٪ با استفاده از غلظت‌های کمتر از ۰/۱ppm ازون توسط آزمایشات آنها حاصل گردید. Wedemeyer و همکاران (1979) غلظت ۰/۰۳ppm از ازون را بصورت تزریق دائمی در نابودی قارچ ساپرولگنیا بر تخم آزاد ماهیان مناسب می‌دانند. آنها همچنین معتقدند که واکنش به غلظت ازون مصرفی می‌باید بطور همیشگی بسته به شرایط آب مورد تیمار مورد بازبینی واقع گردد. Forneris و همکاران (2003) نیز با زمان تماس ۱۰ دقیقه‌ای ازون، موفق به کنترل قارچ ساپرولگنیا شدند. در بین تیمارهای مورد آزمایش(غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۱، ۰/۲و ۰/۳ ppm ازون)، بالاترین میزان تخم گشایی توسط غلظت ۰/۱ppm ازون با ۶۹/۴٪ حاصل شده است.

۱-۲-۷- روش‌های فیزیکی و بیولوژیکی

برداشت تخم‌های قارچ زده و مرده که بعنوان یک روش فیزیکی مقابله کننده با توسعه قارچ می‌باشد در اکثر کارگاههای تکثیر ماهی انجام می‌گیرد. Bruno & Wood (1999) معتقدند که روش اصلی کنترل قارچ بر روی تخم ماهی شامل جمع آوری و برداشت تخم های مرده و قارچ زده در فواصل زمانی معین و همچنین استفاده از حمام‌های شیمیایی است.

از دیگر روش‌های فیزیکی کاهش دهنده عفونت قارچی ، تنظیم جریان آب انکوباتور عنوان شده است. در تحقیقی که توسط Rath و همکاران (1995) انجام شده است تخم‌های سالم و تخم‌های عفونت دار قزل آلای رنگین کمان در معرض جریانهای مختلف آب قرار گرفتند. تخم‌های ساکن قرار گرفته در معرض جریان ۶۰۰-۳۰۰ میلی‌لیتر در دقیقه آلودگی قارچی بیشتری را از خود نشان دادند و میزان موفقیت تخم‌گشایی در آنها کاهش یافت. در جریان آب ۱۲۰۰ میلی لیتر در دقیقه، تخم‌ها تحرک

متوسطی را در ستون آب انکوباتور داشتند و بدون داشتن رشد قارچی، درصد تخم گشایی بطور قابل توجهی افزایش یافت. در جریان ۱۸۰۰ میلی لیتر بر دقیقه، تخم‌ها بطور شدیدی تحرک یافتند و قارچ کنترل شد ولی مرگ و میر تخم‌ها افزایش یافت. آنها معتقدند موفقیت این روش فیزیکی وابسته به میزان جریانی است که موجب تحرک متوسط تخم‌ها می‌گردد.

اشعه UV با قدرت $\mu W.sec/cm^2$ ۲۳۰۰۰۰ قادر به جلوگیری از رشد هیفای قارچ ساپرولگنیا در کارگاههای تکثیر ماهی می‌باشد (Yoshimizu, et al., 1990). در مقابل Sako & (1985) Sorimachi معتقدند که این تیمار فیزیکی قادر به کنترل هیفای ساپرولگنیا نمی‌باشد.

از جمله روش‌های بیولوژیک مبارزه با قارچ ساپرولگنیا، استفاده از موجودات چرا کننده آمفی پود می‌باشد. Oseid (1977) بیان داشته است که گونه‌های *Asellus militaris* و *Gammarus pseudolimnaeus* از رشد قارچی موجود در تخم‌های مرده تغذیه می‌کنند. همچنین از دیگر روش‌های مبارزه بیولوژیک با قارچ ساپرولگنیا، استفاده از باکتری‌های *Pseudomonas* sp. است که بطور مؤثری از رشد *Saprolegnia* جلوگیری می‌کند(**Hatai&Willoughby,1988; Bly et al., 1997**). مکانیسم بازدارندگی رشد قارچ توسط باکتری بر اساس تولید آنتی بیوتیک توسط باکتری (Gurusiddaiah et al., 1986) یا توسط محروم کردن قارچ از جذب یون آهن توسط باکتری استوار است (Weller & Cook, 1983).

۱-۳- خواص ازون، کاربری های ازون و تولید ازون

ازون (O_3) دارای خاصیت اکسیدکنندگی بالایی بوده و واکنش آن در آب بواسطه رادیکالهای مختلفی است که اصلی ترین آنها رادیکالهای آزاد ئیدروکسیل ($OH^{\cdot}$)است که از خود ازون نیز فعالتر می‌باشد (Nickols and Varas, 1992). قابلیت بالای اکسید کنندگی ازون نشأت گرفته از این رادیکالهاست که موجب ایجاد حالت زیست کشی (Biocide) قوی ازون می‌گردد. هر چند Facile و همکاران (2000) و عده‌ای دیگر از محققین در مقابل، معتقدند که در زمان حضور هر دو ترکیب ازون مولکولی (O_3) و رادیکالهای هیدروکسیل ($OH^{\cdot}$)، ازون مولکولی بعنوان عامل غالب اکسید کننده می‌باشد. قدرت مؤثر اکسیداسیون ازون و میزان اکسیداسیون آن وابسته به pH ، درجه حرارت ، میزان بیکربنات و میزان کربن آلی کل (TOC)[1] آب است (Bablon et al., 1991). نیمه عمر ازون در هوا با فشار معمولی اتمسفر ۱۲ ساعت است و در آب خالص در ۲۰ درجه سانتی گراد، حدود ۱۶۵ دقیقه است (Rice et al., 1981). بنا بر نظر Wedemeyer (1996) نیمه عمر ازون در آب ۱۰ تا ۲۰ دقیقه می‌باشد. در زمان حضور آلودگی‌های آلی در آب، نیمه عمر ازون به چند دقیقه کاهش می‌یابد (Duvivier et al., 1996).

در گندزدایی آب با هدف غیرفعال سازی و نابودی باکتری و ویروس‌های موجود در آن، نابودی میکروارگانیسم‌های بیماریزای بیشماری توسط ازون گزارش شده است (Botzenhart et al., 1993 Facile et al., 2000; Finch et al., 1988; Fisher et al., 2000; Larson&Marinas,2003; Komanapalli et al., 1997; Sobsey, 1989; Vaughn et al., 1987). حتی نابودی ویروس‌های HIV (Carpendale & Freeberg, 1991) و هپاتیت A (Hall & Sobsey, 1993) نیز توسط ازون حاصل شده است. هر عامل بیماریزا نیازمند زمان تماس و غلظت‌های مختلفی از ازون جهت نابودی می‌باشد که اصطلاحاً به آن $C.t$[2] گویند.

1- Total organic carbon
2- Concentration . time

بخش پایان نامه

ازون یک اکسید کننده پروتوپلاسم است و عمل باکتری کشی آن سریع است(Fisher et al., 2000). مکانیسم نابودی باکتری بنا بر نظر Komanapalli و همکاران (1997) ، گروههای سولفیدریل در غشاء باکتری است که توسط ازون مورد تهاجم نخست واقع می‌شوند. همچنین بنا بر نظر Bablon و همکاران (1991) ازون در فعالیت آنزیمی باکتری توسط عمل بر روی گروههای سولفیدریل ایجاد اختلال می‌کند. همچنین مکانیسم نابودی ویروس توسط ازون بر اساس تغییر دادن جایگاههای کپسید[1] ویروس جهت استقرار بر روی سطوح سلول می‌باشد که در غلظت های بالاتر ازون منجر به از هم جدا شدن کامل کپسید می‌گردد (Bablon et al., 1991). تا بحال گزارشی مبنی بر تشریح دقیق مکانیسم نابودی قارچ ساپرولگنیا و دیگر قارچهای آبزی توسط ازون منتشر نشده است. ولی Forneris و همکاران (2003) اثر قارچ کشی ازون بر قارچ ساپرولگنیا را متأثر از اثر آن در تأخیر ظهور هیفای قارچ می‌دانند. همچنین Benoit & Matlin (1966) به اثر سمی درون سلولی ازون اشاره نموده‌اند که مشابه با کلرین می‌باشد.

کاربری های ازون در آبزی پروری بطور عمده در دو مکانیسم گندزدایی آب و بهبود کیفیت آب خلاصه می‌گردد (Summerfelt, 2003). بر اساس این دو خصوصیت، سیستم‌های بازچرخشی پرورش ماهی (Hirayama, 1988; Bullock et al., 1997; Brazil et al.,1996; Hsieh et al., 2002 Lucchetti & Gray, 1988; Otte & Rosenthal, 1979 ; Rosenthal & Otte, 1980; Baker, 1986; Colberg & Lingg, 1978) و کارگاههای تکثیر ماهی (Williams et al., 1982; Cryer, 1992; Forneris et al., 2003; Grotmol & Totland., 2000 Owsley, 1991; Ozawa et al., 1991; Monroe & Key, 1980; Roselund, 1975; Wedemeyer, 1996;) از ازون استفاده می‌نمایند.

در آبزی پروری، علاوه بر نابودی قارچ ساپرولگنیا توسط ازون که در گذشته تشریح گردید ، نابودی عوامل بیماریزای زیر نیز توسط ازون گزارش شده است: نابودی ویروس‌های IHN Grotmol et al., 2003;) IPN ، (Yoshimizu et al., 1995; Owsley, 1991)

۱- Capsid

Nodavirus و ،(Chang et al.,1998) در میگو WSBV ,(Liltved et al., 1995; Yoshimizu et al., 1989; Arimoto et al., 1996; Grotmol & Totland, 2000) *Aeromonas salmonicida* باکتری‌های نابودی ؛ (Grotmol et al., 2003; (Wedemeyer & Nelson,1977; Liltved et al., 1995; Colberg & Lingg, 1978) , (Colberg & Lingg, 1978) *Pseudomonas flourescens* و *A. liquefaciens,* *Vibrio* , (Colberg & Lingg, 1978; Liltved et al., 1995)*Yersinia ruckeri* (Sugita et al., 1993; Liltved et al., 1995) *salmonicida* & *V. anguillarum* *Ceratomyxa* ن و نابودی تک یاختگا (Conrad et al., 1975) *Flexibacter columnaris* .(Baker, 1986) *Myxobolus cerebralis* و(Tipping, 1988; Tipping & Kral, 1985) *shasta*

بهبود بخشی کیفیت آب با استفاده از ازون توسط مکانیسم‌های زیر صورت می‌گیرد: ترسیب مواد جامد (Maire, 1979; Reckhow et al., 1993; Ruter & Johnson, 1995)،اکسید نمودن (Summerfelt, 2003; Tango & Gagnon, 2003; Wilczak et al., 1992; Chang & Singer, 1991; Edwards et al., 1993; Leynen, 1998) و کاهش مواد آلی (Otte & Rosental, 1979; Rice &Wilkes, 1992; Rosental & Otte, 1980; Sander & Rosental, 1975; Schuur, 2003; Singh et al., 1999; Owsley, 1991), کاهش آهن و منگنز (Song et al., 1997; Veenstra et al., 1983; Bablon et al., 1991; Pailard et al., 1989; Wheaton, 1977;) ، کاهش رنگ آب Flogstad & Odeggard, 1985; Killops, 1986; Rosental & Wilson, 1987) , (Sutterlin et al., 1984; Watts, 1985; Tango &Gagnon, 2003; Rosental, 1980; Brazil et al., 1996; Krumins et al., 2001) کاهش نیتریت ,(Rosental & Kruner, 1985; Lucchetti & Gray, 1988; Sutterlin et al., 1984; Paller & Lewis, 1988 ; Brazil et al., 1996; Haag et al., 1984) کاهش آمونیاک وتولید اکسیژن بعنوان محصول (Nickols & Varas, 1992; Rosenthal & Kruner, 1985; Colberg & Ling, 1978; Leitzke et al., 1994) آب BODوCOD نهایی و کاهش

Gowswami & Anitha, 2001; Owsley , 1991; Summerfelt et al., 1997; Summerfelt, 2003; Summerfelt & Hocheimer, 1997;).

تولیـــد ازون توســـط مولـــد کرونـــا[1] بعنـــوان متـــداولترین روش تولیـــد ازون محســـوب می‌گردد (Owsley,1991; Bablon et al., 1991).چنانچه دستگاههای مولد ازون از تجهیـزات تولید اکسیژن بعنوان گاز ورودی بجای هوای معمولی استفاده نمایند، کارایی تولید ازون دو تا سـه برابـر افزایش می‌یابـد (Bablon Dimitriou, 1990 ; Owsley, 1991; Masschelein , 1998 et al., 1991;) و از طرف دیگـر از تولیـد مـواد ناخواسـته ای چـون اکسـیدهای نیتـروژن جلـوگیری می‌گردد بطوریکه بنا بـر نظـر Bablon و همکـاران (1991)، در شـرایط طبیعـی بـه ازای تولیـد هـر کیلوگرم ازون، ۵-۳ گرم اسیدنیتریک از هوا تولید می‌شود. انتقال گاز ازون به آب (نرخ انتقال، واحدهای انتقال دهنده، زمان تماس و غیره) توسط Langlais و همکاران (1991)، Summerfelt (2003)، و Summerfelt and Hochheimer (1997) تشـریح شـده اسـت. بنـابرنظر Owsley (1991) افزایش کارایی انتقال ازون به آب می‌تواند موجب کاهش اندازه تجهیزات مورد نیاز و همچنـین کـاهش هزینه های تولید ازون گردد.

1-Corona discharge

فصل ۲- روش تحقیق و مواد

۲-۱- محیط و شرایط آزمایشی

این بررسی طی ۲ سال در ماههای فروردین و اردیبهشت مصادف با زمان تکثیر مصنوعی تاسماهی ایرانی یا قره برون (*Acipenser persicus*) در سالهای ۱۳۸۲ و ۱۳۸۳ انجام گرفت. محل انجام آزمایشات کارگاه تکثیر و پرورش شهید رجایی ساری بود. منبع تأمین کننده آب کارگاه بطور مشترک شامل کانال انحرافی رودخانه تجن ساری و چاههای نیمه عمیق حفر شده در کارگاه بود. محل نگهداری مولدین، حوضچه های گرد مسقفی بود که جهت نگهداری مولدین انتقال یافته به کارگاه، به حوضچه‌های مولدین نر و ماده تفکیک می‌گردید. تعداد زیادی از مولدین نر و ماده در زمانهای متفاوت طی ماههای فروردین و اردیبهشت از صیدگاههای ماهیان خاویاری استان مازندران صید شده و به کارگاه انتقال می‌یافت. عموماً حداکثر زمان نگهداری مولدین ماده در این حوضچه‌ها تا زمان تکثیر ۳-۲ روز بود چرا که ازدیاد زمان نگهداری مولدین در شرایط اسارت، از کیفیت تخم‌های تولید شده در عمل تکثیر می‌کاست. در مقابل، عمل اسپرم گیری ماهیان نر قره برون به کرات صورت می‌گرفت و این عمل تنها با بیهوش کردن مقطعی آنها توسط ضربه به سر همراه بود. آماده سازی مولدین نر و ماده جهت القای آنان به تولید تخمک و اسپرم بر اساس فاکتور درجه حرارت آب و میزان تزریق هورمونهای رسیدگی جنسی استوار بود. پس از انجام لقاح مصنوعی تخمک و اسپرم، تخم‌های حاصله جهت رفع چسبندگی به مدت ۴۵ دقیقه با آب مخلوط با خاک رس بهم زده می‌شدند و پس از شستشو به انکوباتورهای یوشچنکو[۱] موجود در سالن انکوباسیون که توسط کیوان (۱۳۸۲) و Dettlaff و همکاران (1993) تشریح شده، انتقال می‌یافتند. در

۱- Yushchenco

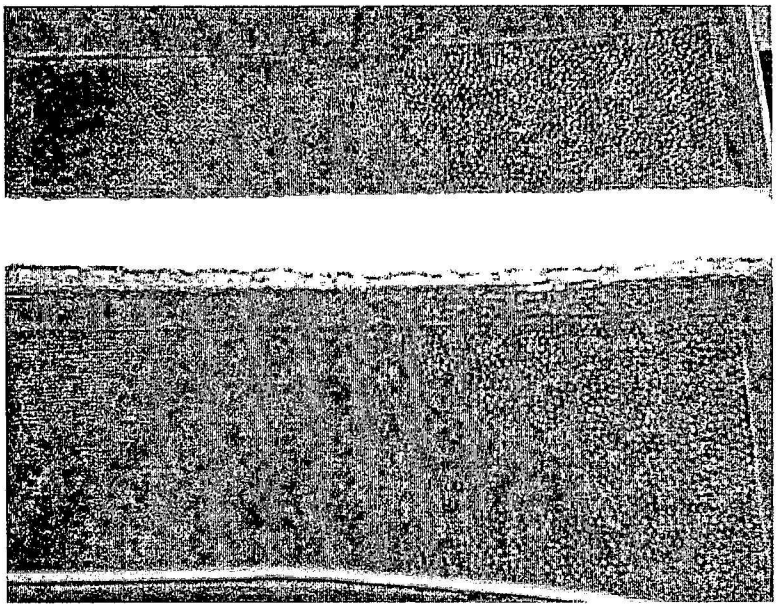
بخش پایان نامه

سالن انکوباسیون، تعداد ۲ انکوباتور یوشچنکو که هر یک دارای ۴ جعبه تخم می‌باشد (جمعاً ۸ جعبه تخم)، جهت انجام این تحقیق به این پروژه اختصاص یافت. جهت مطالعه همزمان یکی دیگر از عوامل مورد بررسی (اثر تیمار فیزیکی در میزان تخم گشایی) در طی آزمایشات، ضلع طولی جعبه‌های تخم به ۲ قسمت مساوی تقسیم گردید و با این عمل تعداد تیمارهای اولیه مورد آزمایش به ۲ برابر افزایش یافت.

انتقال تخم‌ها به جعبه‌های مذکور در سال اول تحقیق، از ابتدای دوران انکوباسیون تخم ماهی قره برون آغاز می‌شد و در سال دوم در هر تکرار آزمایش، تخم‌هایی که حدوداً ۳۰ ساعت از زمان تکثیر خود را سپری کرده‌اند (دوران گاسترولاسیون سپری شده است) به جعبه‌های تخم این پروژه انتقال می‌یافت. خصوصیات فیزیولوژیک تخم طی این مرحله (تا ساعت ۳۰ ام) بگونه‌ای است که هیچگونه عوارض قارچ زدگی در تخم‌ها مشاهده نمی‌شود و بر مبنای این خاصیت تخم، اساس تحقیق در سال دوم بر مبنای تخم‌های پس از ساعت سی‌ام استوار بود. تعداد اولیه تخم‌های انتقال یافته برای هر تیمار در هر دو سال بطور یکسان انتخاب گردید و در هر سری آزمایش و در کلیه تیمارها (توسط روش حجمی) تعداد ۳۰±۱۰۰۰ تخم که از یک مولد بدست می‌آمد جهت انکوباسیون به یک بخش مجزا شده جعبه تخم انتقال می‌یافت. خصوصیات هر جعبه تخم که به ۲ قسمت مساوی تقسیم شده است و همچنین تخمهای موجود در هر یک در شکل ۲ قابل مشاهده است. مدت زمان تخم گشایی در سال اول بعلت پائین بودن میانگین دمای آب در ماههای تکثیر که بطور متوسط در حد ۱۳ درجه سانتی گراد بوده است بین ۶-۵ روز در نوسان بود و در سال دوم بعلت بالا بودن این میانگین (۱۹/۵ درجه سانتی گراد) بین ۵-۴ روز قرار داشت.

جعبه‌های تخم در هرانکوباتور یوشچنکو دارای حجمی معادل ۳۰ لیتر می‌باشد. میزان جریان آب ورودی به هر جعبه تخم در حدود ۷-۵ لیتر در دقیقه بود. ریزش تدریجی آب خروجی هر جعبه تخم در مخزنی که در زیر انکوباتور یوشچنکو قرار دارد موجب حرکت ملایم تخم‌ها (توسط ابزاری که در هر جعبه تعبیه شده است) در حد ۴ بار در دقیقه می‌گردید. حرکت ملایم ایجاد شده در هر جعبه تخم از بهم چسبیدگی تخم‌ها و همچنین چسبیدن آنها به کف توری جعبه جلوگیری می‌کند و در عمل مشاهده

شده است که در انکوباتورهایی که بعلت خرابی این مجموعه، حرکتی در جعبه تخم ایجاد نمی‌گردد، تخم‌ها به کف توری جعبه‌ها و به یکدیگر چسبیده و عفونت قارچی و میزان ابتلا به قارچ با شدت بسیار



شکل ۲- جعبه‌های تخم انکوباتور یوشچنکو و تقسیم بندی آن و تخم‌های موجود در آن

بالایی در کل جعبه تخم مشاهده می‌گردد.

انتخابی جهت جدا سازی تخم‌های سالم از تخم‌های ناسالم (مرده، لقاح نیافته و پلی اسپرمی) در هر سری آزمایش و در هر بار انتقال تخمهای اولیه به هر تیمار صورت نگرفت که علت اصلی آن مطالعه قابلیت‌های کاربردی تیمارهای شیمیایی (ازون و پراکسیدهیدروژن) و همچنین تیمار فیزیکی (جداسازی تخم‌های مرده و قارچ زده در طول دوره انکوباسیون) بوده است. بدیهی است انجام مطالعات مذکور بر روی تخم‌های صرفاً سالم و اعلام نتایج حاصل از آن، تنها جنبه آزمایشگاهی دارد و قابلیت عملی شدن در محیطهای طبیعی کارگاههای تکثیر را ندارد.

۲-۲- کنترل برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب

اندازه گیری برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب سالن تکثیر و تیمارهای آزمایش، صرفاً جهت اطمینان از دارا بودن شرایط مطلوب آب مورد استفاده صورت گرفته است و در آن پارامترهای اکسیژن محلول، pH و نیتریت مورد اندازه‌گیری واقع شدند. اندازه‌گیری روزانه درجه حرارت علاوه بر هدف فوق،

بخش پایان نامه

جهت ارزیابی روابط متقابل میان میزان قارچ زدگی و همچنین میزان تخم گشایی در تکرارهای مختلف صورت گرفته است. بدین منظور جهت اندازه گیری روزانه درجه حرارت آب از ترمومتر دیجیتال French cooking با دقت ۰/۱ درجه سانتی گراد استفاده گردید. درجه حرارت آب سالن انکوباسیون با توجه به نوسانات آب و هوایی منطقه در سال اول، در محدودهٔ ۴ ± ۱۳ درجه سانتی گراد و در سال دوم در محدودهٔ ۱/۳ ± ۱۹/۵ درجه سانتی گراد قرار داشت. از اینرو مشاهده می‌گردد که متوسط درجه حرارت آب در سال دوم به مراتب بیشتر از متوسط سال اول می‌باشد ولی نرخ نوسان کمتری نسبت به سال اول دارد.

میزان اکسیژن محلول (DO) آب انکوباتورها در هر دو سال در سطح اشباع و قابل قبول فراتر از ۶ppm قرار داشت و هیچگاه مقادیر آن در کمتر از ۶ppm ثبت نگردید. استفاده توأم از آب رودخانه که عموماً اکسیژن محلولی در سطح اشباع دارد و همچنین هوادهی مصنوعی آب چاه مورد استفاده بروش پمپ افشان آب[1] در مخازنی که به همین منظور تعبیه شده است منجر به ایجاد چنین سطحی از اکسیژن محلول شده است. عموماً تیمارهایی که تحت ازوناسیون و همچنین تیمار با پراکسیدهیدروژن قرار داشتند، سطح اکسیژن محلول آنها در حدود ۲ppm-۱ بیشتر از اکسیژن محلول تیمارهای شاهد (آب معمولی سالن) بوده است. هر چند این اختلاف تنها از زمان شروع تیمار شیمیایی هر جعبه تخم تا انتهای آن (۱۵-۱۰ دقیقه) بطول می‌انجامیده است. گفتنی است در زمان شروع تیمار شیمیایی جعبه‌های تخم، روزانه یکبار جریان آب عادی وارد شده به هر جعبه تخم به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه قطع می‌گردید و در مورد تیمارهای ازوناسیون، آب حاوی ازون از مخازن ۱۰۰ لیتری که با استفاده از پمپ‌های مکنده گاز ازون، منجر به اختلاط گاز ازون و آب شده بودند به جعبه‌های تخم تحت تیمار ازون سرازیر می‌گشتند. علت فزونی یافتن میزان اکسیژن محلول این تیمارها بطور اصلی بدلیل نقش اکسیژن دهی پمپ‌های مذکور در زمان ۲ تا ۴ ساعت روشن بودن مداوم در مخازن مذکور بوده است. تجزیه جزیی مولکول ازون به اکسیژن در طی زمان انتقال گاز ازون به مخازن مربوطه جهت انحلال در آب، به

۱- Pump sprayer

جهت ناچیز بودن میزان ازون تزریقی، نقشی را در افزایش میزان اکسیژن دهی نمی‌تواند ایفاء نماید. این موضوع در مورد جعبه‌های تخم تحت تیمار با پراکسیدهیدروژن نیز می‌تواند بدلیل تجزیه تدریجی H_2O_2 به اکسیژن معمولی قلمداد گردد. بعلت کوتاه بودن زمان این اختلاف (۱۵-۱۰ دقیقه) و همینطور پائین بودن میزان اختلاف اکسیژن محلول (ppm ۲-۱) نسبت به تیمارهای شاهد، این موضوع چندان با اهمیت بنظر نمی‌رسد.

اندازه‌گیری اکسیژن محلول ۳ بار در هفته با استفاده توأم از دستگاه اکسیژن متر دیجیتال شرکت WTW (OXI-3351) با دقت ۰/۰۱ppm و تست کیت‌های اکسیژن متری بروش شیمیایی(Winkler) شرکت Hanna (HI-3810) با دقت ۰/۱ppm صورت می‌گرفت.

اندازه گیری pH آب انکوباتورها نیز بصورت ۳ بار در هفته با استفاده از pH متر دیجیتال شرکت WTW (330-i) با دقت ۰/۰۰۱ درجه صورت گرفت. pH آب در تیمارهای شیمیایی و تیمار شاهد هیچگونه اختلاف معنی داری را با یکدیگر نشان ندادند. در سال اول حدود نوسانات pH آب انکوباتورها در محدودهٔ ۰/۲ ± ۷/۴ و در سال دوم تحقیق، این نوسانات در محدودهٔ ۰/۳ ± ۷/۵ قرار داشت.

نیتریت و آمونیاک، دو ماده سمی برای تخم می‌باشند و مطابق نظر Toor و همکاران (1983) تجمع نیتریت و آمونیاک موجب افزایش ساپرولگنیا بر روی تخم ماهی می‌گردد. اندازه گیری میزان نیتریت نیتروژنی (NO_2- N) برای آب سالن تکثیر نیز ۲ بار در هفته با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر PF-11 شرکت Mn آلمان و تست کیت‌های مربوطه انجام شد. محدودهٔ اندازه گیری NO_2- N برای این دستگاه در حد ۰/۰۱-۰/۴۵ppm بود که در کلیه آزمایشات آب سالن انکوباسیون، غلظت نیتریت نیتروژنی آب پائین تر از ۰/۰۱ppm بود. گفتنی است که عموما در زمان استفاده از آبهای مانده و شدیداً کود داده شده برای انکوباسیون تخم‌ها، امکان بالا رفتن غلظت آمونیاک خصوصاً در زمانی که pH به مقادیر بالای ۹ متمایل می‌شود وجود دارد. از اینرو امکان تولید آمونیاک (NH_3) و سمیت آن برای تخم‌ها در هر دو سال تحقیق از آن جهت که اولاً همیشه از آب تازه و جاری استفاده شده است و ثانیاً pH آب در تمامی زمانها از حداکثر میزان ۷/۸ درجه تجاوز نکرده است، کاملاً منتفی می‌باشد. از

این بابت است که کنترل میزان آمونیوم نیتروژنی (NH_4^+-N) ضرورت نیافته است. جدول ۱ ارتباط متقابل میان درصد تشکیل و تبدیلات بین آمونیوم و آمونیاک را در pH های مختلف نشان می‌دهد که توسط شرکت شیمیائی Merck آلمان گزارش شده است.

دستگاه اسپکتروفوتومتر PF-11 جهت اندازه گیری نیتریت آب تیمارها در شکل ۳ نشان داده شده است.

جدول ۱- ارتباط متقابل آمونیوم و آمونیاک در pH های مختلف

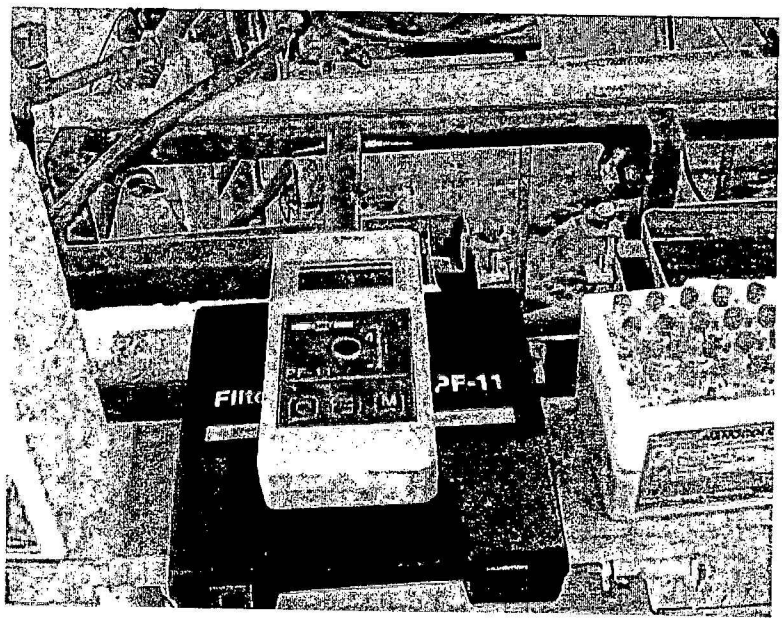
pH	Amonium ions (%)	Free ammonia (%)
6	100	0
7	99	1
8	96	4
9	75	25
10	22	78

۲-۳- تولید و انتقال گاز ازون به آب

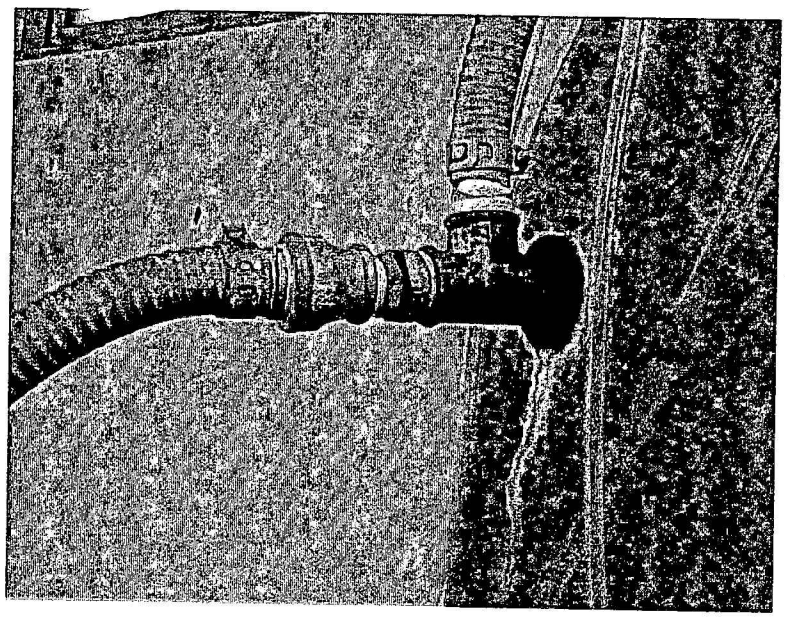
در سال اول تحقیق، گاز ازون توسط یک دستگاه مولد ازون تولید می‌شد و در سال دوم، یک دستگاه مولد دیگر به آن افزوده شد. تولید ازون توسط این دستگاهها بر اساس مواد کرونا دیسچارج[۱] بوده است و از هوای معمولی بعنوان گاز ورودی دستگاه استفاده گردید. میزان ازون تولیدی دستگاه اول از طرف شرکت سازنده داخلی ۲ گرم در ساعت عنوان شد و میزان مصرف انرژی الکتریکی آن ۱۰۰ وات در ساعت بود. از یک مخزن ۱۲۰ لیتری پلاستیکی جهت انحلال گاز ازون تولیدی در آب استفاده شد که تا ۱۰۰ لیتر آبگیری میگردید. تجهیزات انتقال دهنده گاز ازون به آب شامل الکتروپمپ ۱ اینچ آب و لوله‌های خرطومی ۱ اینچی است که مطابق شکل ۴ با ساده ترین تغییر حالت ممکن در لوله‌های مرتبط،

۱- Corona discharge

تبدیل به یک پمپ مکش ونتوری[1] شده است و از این طریق موجبات مکش قوی گاز ازون تولیدی و انحلال انرا در مخزن ۱۲۰ لیتری فراهم آورده است.



شکل ۳- دستگاه اسپکتروفوتومتر PF-11 اندازه گیری کننده نیتریت و ازون محلول بروش DPD



شکل ۴- محفظه Venturi

۱- Venturi aspiator pump

بخش پایان نامه

بعد از گذشت حدوداً ۲ ساعت ازوناسیون مداوم توسط این سیستم، غلظت ازون محلول به حدود ۰/۰۵ ppm می‌رسید و بعد از گذشت حدوداً ۴ ساعت ازوناسیون مداوم به ۰/۱ ppm می‌رسید. لازم به ذکر است که استفاده از پمپ ونتوری مذکور بعلت داشتن فشار بالا در جابجایی سیال (آب) که با باز چرخش مداوم آب در مخزن هر پمپ همراه بوده است موجبات افزایش درجه حرارت آب در حال گردش را به ازای هر ساعت ۱ درجه سانتی گراد فراهم می‌نموده است که از این بابت بعنوان نقطه ضعف تلقی می‌گردد. از اینرو جهت مقابله با افزایش ناخواسته دمای آب که از یکسو منجر به کاهش حلالیت ازون محلول و از طرف دیگر موجب ایجاد شوک دمایی در زمان تماس با تخم (تیمار تخم) می‌گردد، از لوله‌های آلومنیومی خنک کننده استفاده گردید. این لوله‌ها که شامل دو دسته لوله مدور آلومنیومی با قطر ۱۰mm و طول ۱۵ متر بوده است، بشکل مدور در درون مخزن ۱۲۰ لیتری تعبیه شد و هر کدام با داشتن ورودی و خروجی جداگانه، موجب هم دما شدن سریع آب مخزن با آب سالن تکثیر می‌شده‌اند و بدین گونه از افزایش دمای ناخواسته آب مخزن جلوگیری می‌نموده‌اند.

با محاسبه فرمول :

$$V = \frac{L.r^2.\pi}{4000}$$

L = طول کلی لوله بر حسب متر

r^2 = قطر لوله بر حسب mm

میزان حجم یا فضای اشغال شده مخزن توسط لوله آلومنیومی (به لیتر) محاسبه می‌گردد که خواهیم داشت :

بخش پایان نامه

$$V = \frac{30 \times 10^2 \times 3/1415}{4000} = ۲/۳۵ \text{ لیتر}$$

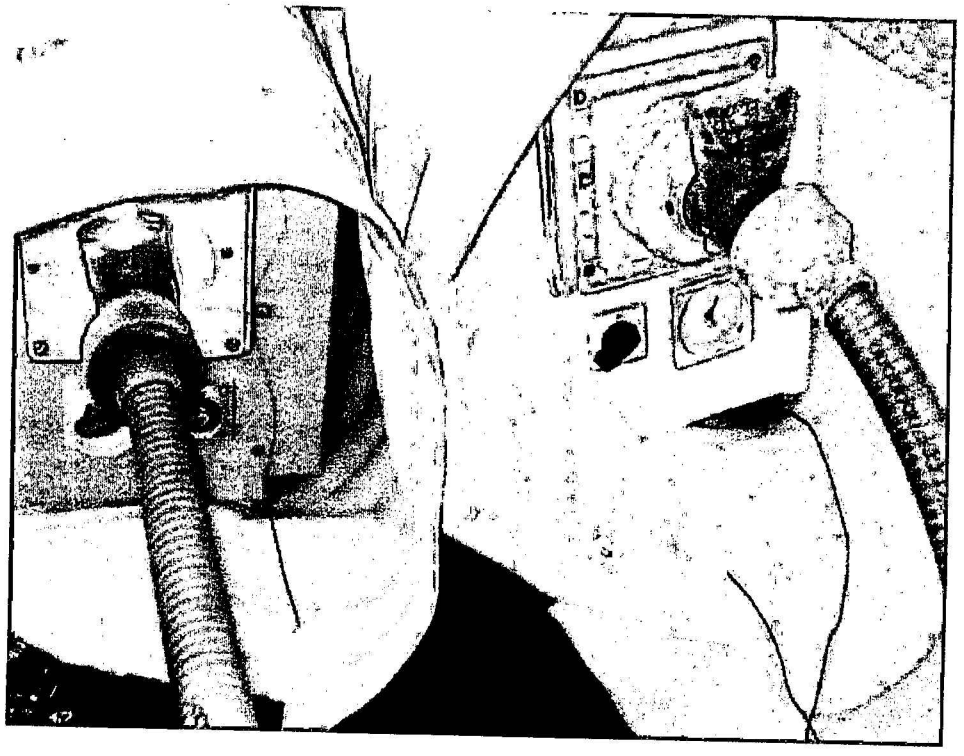
از اینرو افزودن حدوداً ۲/۵ لیتر آب در هر سری آزمایش به مخزن مذکور جهت جبران فضای اشغال شده توسط لوله آلومنیومی صورت می‌گرفت.

قابل ذکر است که از مجموع ۱۰ تکرار زمانی صورت گرفته در سال اول تحقیق جهت ازوناسیون تخم‌ها، تنها ۳ تکرار آخر بدلیل استفاده از پمپ ونتوری موفق به انحلال مناسب ازون گردید و نتایج حاصل از همین ۳ تکرار است که در بخش نتایج و بحث برای سال اول مطرح می‌گردد. در حالیکه در ۷ تکرار اولیه، از ستون انحلال U شکل و همینطور کمپرسور یخچال (با قدرت ۱/۳ اسب بخار) با سنگ هوا جهت انحلال گاز ازون استفاده گردیده بود که بدلیل عدم انحلال کافی گاز ازون در آب و همینطور پس دادن روغن در آب، از آزمایشات حذف گردید.

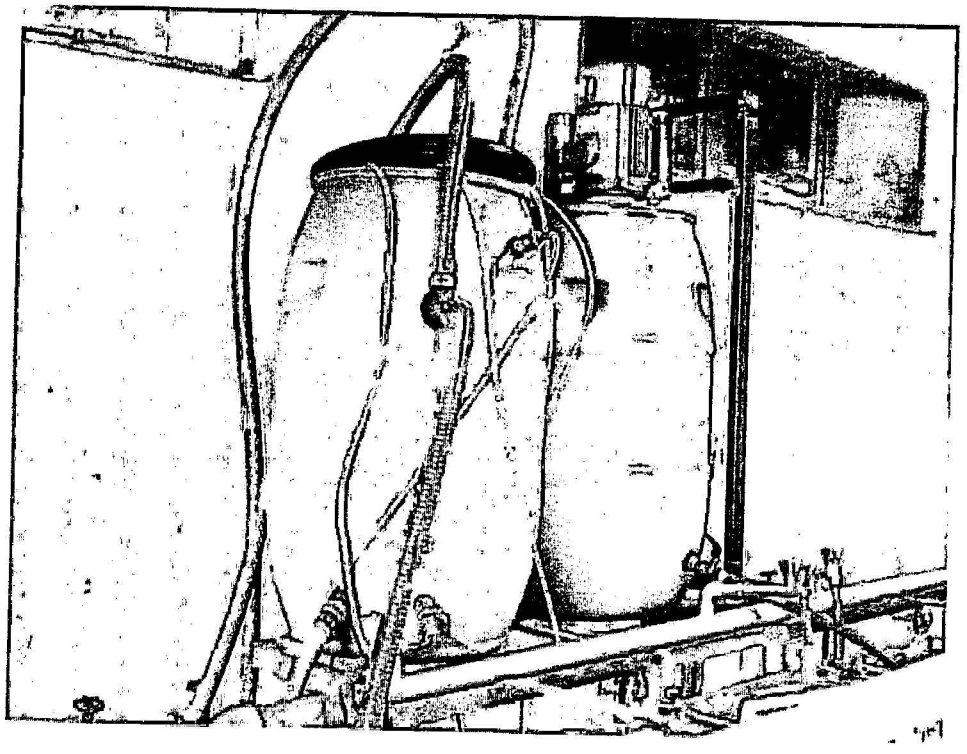
در سال دوم، علاوه بر استفاده بدون تغییر از دستگاه مولد ازون و تجهیزات انتقال دهنده سال اول، یک دستگاه مولد ازون با قدرت تولیدی ۴ گرم در ساعت و مصرف انرژی ۲۰۰ وات در ساعت جهت توسعه تیمارهای آزمایش به آن افزوده شد. تصویر دو دستگاه مولد ازون بکار گرفته در این تحقیق در شکل ۵ آمده است. از یک مخزن ۱۲۰ لیتری دیگر جهت انتقال گاز ازون از این دستگاه به آب استفاده بعمل آمد که همانند مخزن اول به میزان ۱۰۰ لیتر آبگیری می گردید. تجهیزات انتقال دهنده گاز ازون در این سیستم شامل استفاده از یک توربین هواده[۱] با دور موتور ۲۸۵۰ rpm بود که پروانه مکنده آن بطور عمود بر مخزن تا عمق ۶۰ سانتی‌متری مخزن را تحت پوشش قرار می‌داد. این سیستم دقیقاً مشابه سیستم‌های هوادهی ایرجت[۲] می‌باشد که در کشور شناخته شده می‌باشد. نمای کلی قرار گرفتن این پمپ در مخزن دوم در کنار مخزن اول استفاده کننده از پمپ ونتوری در شکل ۶ ارائه شده است. همچنین نقشه کلی سیستم‌های ازون در سالهای اول و دوم در شکل ۷ ارائه می‌گردد. مکش مناسب ایجاد شده توسط این پمپ در طی حدوداً ۲ ساعت از دستگاه مولد ازون دوم، منجر به ایجاد غلظت ازون محلول در حد ۰/۱۵ppm در مخزن دوم می‌گردید. در این مجموعه در طی زمان انکوباسیون، هیچگونه عوارض ناشی از بالا رفتن درجه حرارت آب مشاهده نگردید.

۱- Aspirating turbine

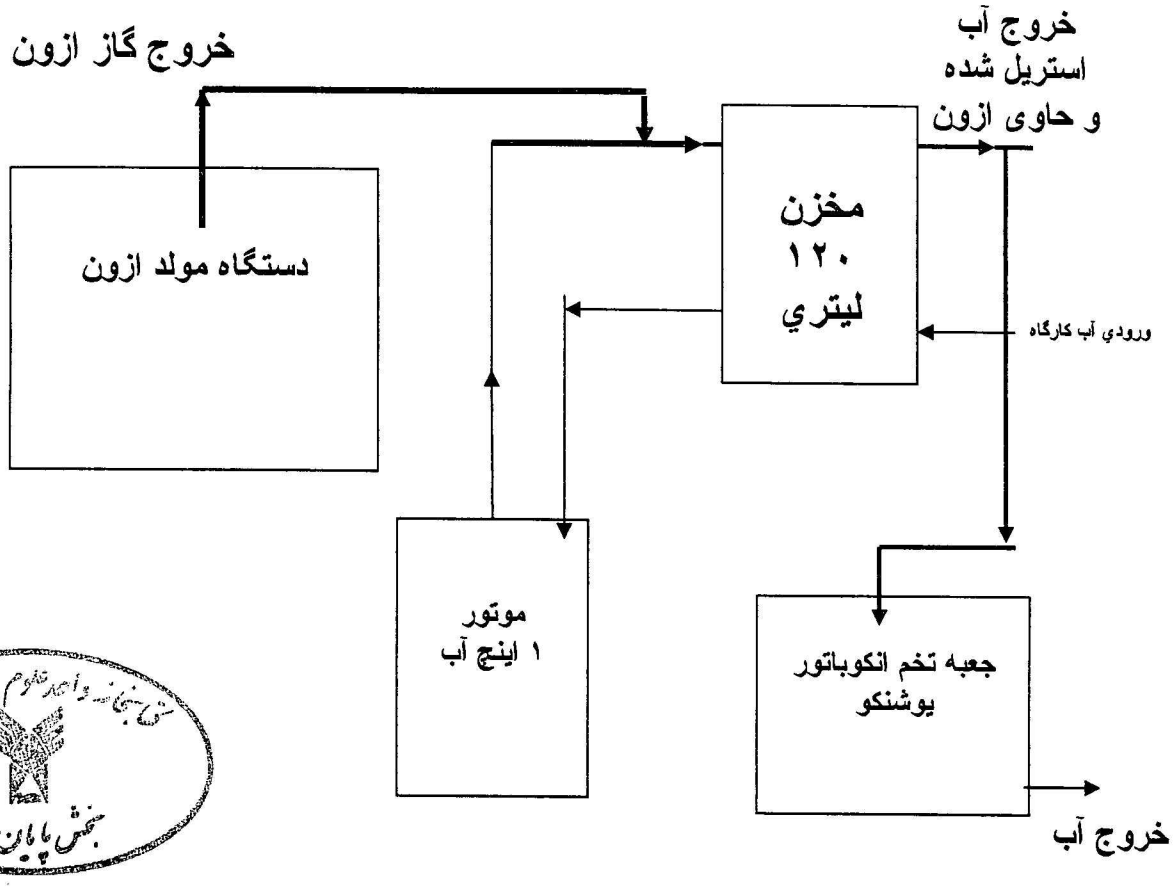
۲- Propeller aspirator pump



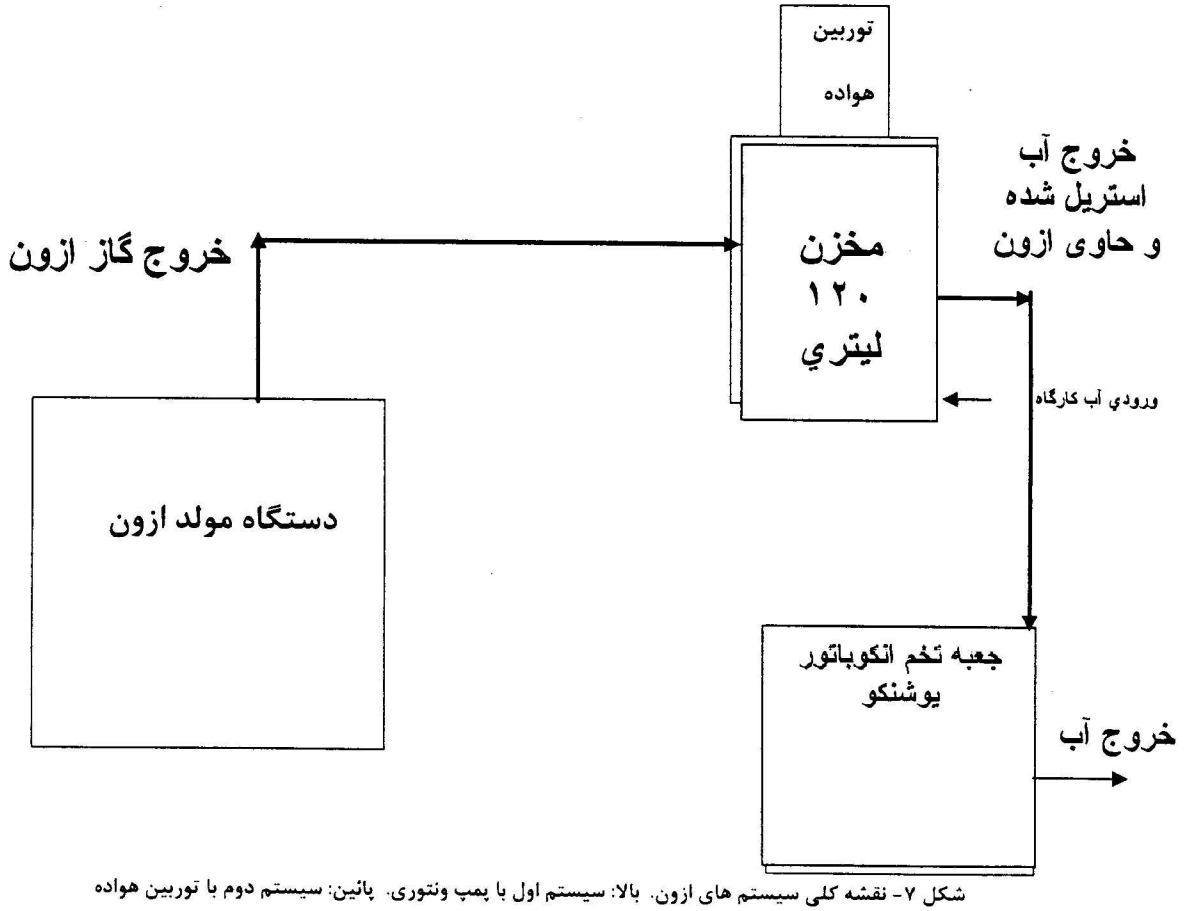
شکل ۵- دستگاههای مولد ازون



شکل ۶- نمای الکتروموتور توربین هواده مخزن دوم (سمت راست) در کنار مخزن اول استفاده کننده از پمپ ونتوری (سمت چپ)



بخش پایان نامه



شکل ۷- نقشه کلی سیستم های ازون. بالا: سیستم اول با پمپ ونتوری. پائین: سیستم دوم با توربین هواده

۲-۴- اندازه گیری غلظت ازون محلول

غلظت ازون محلول ایجاد شده در هر دو سیستم تولید ازون توسط روش ایندیگوتری سولفونات[۱] تشریح شده توسط Bader & Hoigne (1981) استاندارد گردید. برای این کار از یک دستگاه اسپکتروفوتومتر DR-2400 شرکت HACH آمریکا و آمپولهای معرف[۲] آن در محدودهٔ صفر تا ۰/۲۵ppm استفاده شد. شکل ۸ دستگاه اسپکتروفوتومتر DR-2400 را نشان می‌دهد. اندازه‌گیری ازون تولیدی توسط هر دو سیستم مولد ازون بر طبق نمونه برداری های صورت گرفته از غلظت ازون تولیدی در فواصل زمانی معین و محاسبه میانگین هر فاصله زمانی انجام گرفت که در جدول ۲ برای سیستم اول (دستگاه مولد ازون با قدرت ۲ گرم در ساعت با پمپ مکنده ونتوری) و در جدول ۳ برای سیستم دوم (دستگاه مولد ازون با قدرت ۴ گرم در ساعت با توربین هواده) تشریح شده است. لازم به ذکر است که میزان خطای موجود در اندازه گیری ازون محلول توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر DR-2400 در حد ppm ۰/۰۱ ± توسط شرکت HACH اظهار شده است. کلیه روش های کاری بکار گرفته شده در اندازه گیری و استاندارد سازی سیستم های اول و دوم، در محدوده زمانی خارج از فصل تکثیر تاسماهی در کارگاه تکثیر و پرورش شهید انصاری رشت و حمل نمونه‌های ازون محلول در کمترین زمان ممکن به بخش آزمایشگاه آب اداره کل شیلات گیلان (واقع در بندر انزلی) و استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مذکور صورت گرفته است.

۱- Indigo trisulphonate

۲- Reagent ampule

بخش پایان نامه

شکل ۸- دستگاه اسپکتروفوتومتر DR-2400 جهت اندازه گیری ازون محلول بروش ایندیگوتری سولفونات

جدول ۲- اندازه گیری غلظت ازون محلول در سیستم اول (دستگاه مولد ازون با قدرت ۲ گرم در ساعت و پمپ مکنده ونتوری)

شماره آزمایش	زمان نمونه برداری از ابتدای ازوناسیون (به دقیقه)	تعداد نمونه (Sample)	تعداد شاهد (Blank) جهت صفر کردن اولیه دستگاه	میانگین غلظت ازون محلول در نمونه‌ها (به ppm)
۱	۳۰	۳	۱	۰/۰۰۶
۲	۶۰	۳	۱	۰/۰۱۶
۳	۹۰	۳	۱	۰/۰۳
۴	۱۲۰	۳	۱	۰/۰۵۳
۵	۱۸۰	۳	۱	۰/۰۷۳
۶	۲۴۰	۳	۱	۰/۰۹۶

جدول ۳- اندازه گیری غلظت ازون در سیستم دوم (دستگاه مولد ازون با قدرت ۴گرم در ساعت با توربین هواده)

شماره آزمایش	زمان نمونه برداری از ابتدای ازوناسیون (به دقیقه)	تعداد نمونه (Sample)	تعداد شاهد (Blank) جهت صفر کردن اولیه دستگاه	میانگین غلظت ازون محلول در نمونه‌ها (به ppm)
۱	۳۰	۳	۱	۰/۰۲۳
۲	۶۰	۳	۱	۰/۰۴۳
۳	۹۰	۳	۱	۰/۰۹
۴	۱۲۰	۳	۱	۰/۱۴۳

اندازه گیری مستمر و روزانه ازون محلول در تیمار تخم ها نیز بدلیل در اختیار نبودن دستگاه DR-2400، توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر PF-11 (Mn آلمان) انجام گرفت که در شکل ۳ نمایش داده شده است. روش اندازه گیری ازون محلول برای این دستگاه، روش DPD[1] بوده است که محدودهٔ اندازه گیری ازون محلول توسط تیوب‌های معرف آن ۰/۰۵-۲ppm می‌باشد. با اندازه گیری روزانه تیمارهای ازوناسیون با روش فوق و پس از حصول اطمینان از ایجاد غلظت موردنظر از ازون در مخازن مربوطه، عمل تیمار شیمیایی تخم ها توسط ازون صورت می‌گرفت.

۲-۵- مشخصات تیمارهای آزمایش

۲-۵-۱- سال اول

مشخصات تیمارهای آزمایشی شامل ۲ تیمار ازون بدون تیمار فیزیکی، ۲ تیمار ازون بهمراه تیمار فیزیکی و ۱ تیمار شاهد (بدون گندزدایی شیمیایی و بدون تیمار فیزیکی) بوده است. بنابراین مشخص می‌گردد که در تیمارهای اول و دوم، تنها تیمار شیمیایی ازون با غلظت های متفاوت مدنظر است و در تیمارهای سوم و چهارم علاوه بر تیمار شیمیایی ازون در غلظت های تکرار شده ۲ تیمار اول، تیمار فیزیکی تخم‌ها نیز انجام می‌شود و در تیمار پنجم (شاهد) هیچگونه تیمار شیمیایی و فیزیکی انجام نمی‌شود. مشخصات این تیمارها در جدول ۴ خلاصه شده است. تیمارهای مذکور در ۳ تکرار زمانی بر روی عامل مورد بررسی (میزان تخم گشایی) مورد تکرار واقع شده است. در تیمارهای اول تا چهارم که از ازون جهت ضد عفونی شیمیایی تخم‌ها استفاده شد، زمان تماس ازون ۱۰ دقیقه بود و این عمل روزانه یکبار از روز اول انکوباسیون تا قبل از تخم گشایی (مشاهده اولین لاروها) ادامه می‌یافت.

۱- N,N-diethyl-1 , 4- phenylene diamine

جدول ۴- مشخصات تیمارهای ازون (تیمارهای اول تا چهارم) وتیمارشاهد (تیمار پنجم) در سال اول

تیمار اول	ppm ۰/۰۵ ازون (تیمار شیمیایی)
تیمار دوم	ppm ۰/۱ ازون (تیمار شیمیایی)
تیمار سوم	ppm ۰/۰۵ ازون با جمع آوری تخم های مرده و قارچ زده (تیمار شیمیایی + تیمار فیزیکی)
تیمار چهارم	ppm ۰/۱ ازون با جمع آوری تخمهای مرده و قارچ زده (تیمار شیمیایی + تیمار فیزیکی)
تیمار پنجم	شاهد (بدون گندزدایی)

۲-۵-۲- سال دوم

تعداد ۱۲ تیمار در سال دوم مورد آزمون واقع شده است. مشخصات تیمارهای آزمایش در سال دوم شامل ۳ تیمار ازون بدون تیمار فیزیکی، ۳ تیمار ازون بهمراه تیمار فیزیکی، ۲ تیمار پراکسیدهیدروژن بدون تیمار فیزیکی، ۲ تیمار پراکسیدهیدروژن با تیمار فیزیکی، ۱ تیمار شاهد (بدون تیمار شیمیایی و فیزیکی) ۱ تیمار شاهد (بدون تیمار شیمیایی و بهمراه تیمار فیزیکی) بوده است. مشخصات ۱۲ تیمار سال دوم در جدول ۵ توصیف شده است.

جدول ۵- مشخصات تیمارهای سال دوم

تیمار اول	ppm ۰/۰۵ ازون
تیمار دوم	ppm ۰/۱ ازون
تیمار سوم	ppm ۰/۱۵ ازون
تیمار چهارم	ppm ۰/۰۵ ازون + تیمار فیزیکی
تیمار پنجم	ppm ۰/۱ ازون + تیمار فیزیکی
تیمار ششم	ppm ۰/۱۵ ازون + تیمار فیزیکی
تیمار هفتم	ppm ۵۰۰ پراکسیدهیدروژن
تیمار هشتم	ppm ۱۰۰۰ پراکسیدهیدروژن
تیمار نهم	ppm ۵۰۰ پراکسیدهیدروژن + تیمار فیزیکی
تیمار دهم	ppm ۱۰۰۰ پراکسیدهیدروژن + تیمار فیزیکی
تیمار یازدهم	شاهد
تیمار دوازدهم	شاهد + تیمار فیزیکی

۱۲ تیمار مذکور در ۶ تکرار زمانی بر روی عامل مورد بررسی (میزان تخم گشایی) آزمایش گردید. انجام تکرار بیشتر، عملاً بدلیل از کار افتادن (آتش گرفتن) یکی از دستگاههای مولد ازون منتفی گردید. در تیمارهای اول تا ششم که از ازون جهت گندزدایی تخم ها استفاده شده است، زمان تماس ازون با تخم‌ها همانند آزمایشات سال اول ۱۰ دقیقه در هر روز بوده است. عمل تیمار تخم‌ها توسط ازون در اوایل انتقال تخم‌های بعد از ساعت سی‌ام به انکوباتورها تا قبل از تخم گشایی (مشاهده اولین لاروها) بصورت ۱ بار در روز ادامه می‌یافته است.

تیمارهای هفتم تا دهم که اختصاص به استفاده از پراکسید هیدروژن دارد نیز با زمان تماس ۱۵ دقیقه در هر روز اعمال شده است و عمل تیمار تخم‌ها توسط پراکسیدهیدروژن از اویل انتقال تخم‌های بعد از ساعت سی‌ام تا قبل از تخم گشایی بصورت ۱ بار در روز انجام شده است. در زمان تیمار تخم‌ها توسط ازون و پراکسیدهیدروژن در هر دو سال ، جریان آب ورودی به انکوباتورها قطع می‌گردید و پس از انجام گندزدایی شیمیایی در زمان تماس مقرر (۱۵-۱۰ دقیقه)، این جریان برقرار می‌شد. پراکسیدهیدروژن ۳۰٪ استفاده شده در این تحقیق محصول شرکت Merck آلمان بوده است. در تیمارهای سوم و چهارم آزمایشات سال اول و همچنین تیمارهای چهارم، پنجم، ششم، نهم، دهم و دوازدهم آزمایشات سال دوم که عمل تیمار فیزیکی بر روی تخم‌ها صورت گرفته است (مطابق جداول ۴ و ۵)، تیمار فیزیکی با برداشت تخم‌های مرده و قارچ زده توسط عمل سیفون کردن ۵ بار در روز صورت می‌گرفت. در همه تیمارها، تخم‌های مرده و قارچ زده به تفکیک شمارش می‌گردید. جهت محاسبه میزان تخم گشایی، تعداد لاروهای خارج شده از هر تیمار محاسبه می‌شد. همچنین جهت بررسی و ارزیابی ناهنجاری رفتاری و بد شکلی[۱] لاروهای حاصله، از استرئومیکروسکوپ[۲] استفاده بعمل آمد.

۱- Malformation

۲- Stereomicroscope

۲-۶- روش های آماری مورد استفاده

میانگین تخم گشایی تیمارهای درون هر سال با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) در طرح بلوک‌های کامل تصادفی (RCB)[۱] مورد تحلیل آماری قرار گرفت و در صورت داشتن اختلاف معنی دار بین تیمارها (P<۰/۰۱)، عملیات مقایسات میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن[۲] در سطوح P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱ انجام شد.

ارتباط متقابل بین درجه حرارت آب و میزان قارچ زدگی تیمار شاهد با استفاده از آزمون همبستگی خطی ساده (r) بین دو متغیر بدست آمد.

در نمودارهای ستونی ترسیم شده، میزان Error bar هر ستون از طریق فرمول Max-Min/ 2 برای داده‌های موجود در تکرارهای هر تیمار در سطح ۵٪ حاصل شده است. اشتباه معیار میانگین (SEM)[۳] برای میانگین‌های هر تیمار نیز با استفاده از فرمول $SEM = \frac{SX}{\sqrt{n}}$ حاصل شده است. کلیه نمودارهای ترسیم شده با استفاده از نرم‌افزار origin 5 ترسیم گردید. همچنین از نرم افزار SPSS 12 جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات حاصله استفاده بعمل آمده است.

۱- Randomized Complete Block Designe

۲- Duncan's test

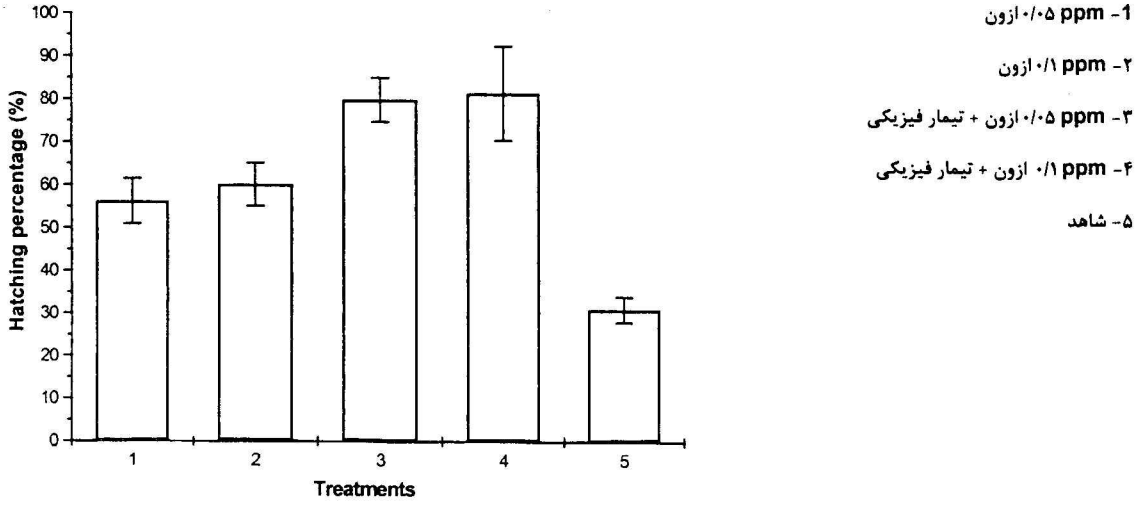
۳- Standard error of mean

فصل ۳- نتایج

۳-۱- نتایج سال اول :

با مقایسه میزان تخم گشایی تخم های تحت تیمار ازون (تیمارهای اول تـا چهـارم) و تخـم‌هـای شـاهد (تیمار پنجم)، همانگونه که در شکل ۹ آمده است، مشخص می‌گردد که در تیمار چهارم، ازوناسـیون هـر روزه با غلظت ۰/۱ppm بهمراه برداشت تخم‌های مرده و قارچ زده (= تیمار فیزیکی)، منجر بـه بـالاترین میزان تخم گشایی و تولید لارو (۸۱/۴٪) در بین همه تیمارها شده است. ازوناسیون بدون تیمار فیزیکـی در تیمارهای اول و دوم منجر به تخم گشایی متوسطی (۵۶/۲ تـا ۶۰/۱٪) در بـین تیمارهـا شـده اسـت (شکل ۹). همچنین تیمار شاهد که بدون گندزدایی و همچنین بدون تیمار فیزیکی بوده است، کمتـرین میزان تخم گشایی (۳۱٪) را در بین همه تیمارها به خود اختصاص داده است (شکل ۹).

بین تیمارهای اول و دوم (ازوناسیون بدون تیمار فیزیکی) با تیمارهای سوم و چهـارم (ازوناسـیون بهمراه تیمار فیزیکی) و همچنین با تیمار پنجم (تیمار شاهد) در میزان تخم گشایی اخـتلاف معنـی دار ($P<0/01$) وجود دارد (جدول ۶).



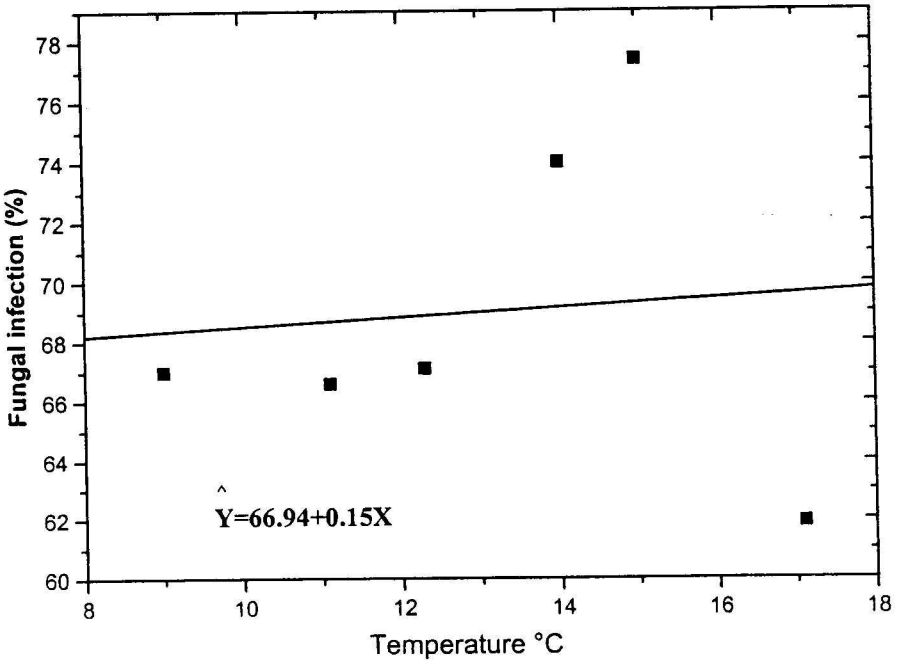
شکل ۹- درصد تخم گشایی بر حسب تیمارهای مختلف سال اول

بخش پایان نامه

جدول ۶- مقایسه میانگین تیمارهای مختلف سال اول در میزان تخم گشایی توسط آزمون دانکن (P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱)

تیمارها	P<0.05	P<0.01	SEM ± میانگین تعداد تخم گشایی
تیمار چهارم (۰/۱ppm ازون + تیمار فیزیکی)	a	a	۸۱۴± ۷۲
تیمار سوم (۰/۰۵ ppmازون + تیمار فیزیکی)	a	a	۷۹۸/۳±۳۰
تیمار دوم (۰/۱ ppm ازون)	b	ab	۶۰۱± ۲۹
تیمار اول (۰/۰۵ ppm ازون)	b	b	۵۶۲±۳۲
تیمار پنجم (شاهد)	c	c	۳۱۰± ۲۲

همبستگی بین درجه حرارت آب کارگاه و درصد قارچ زدگی تیمار شاهد در شکل ۱۰ نمایش داده شده است. میزان همبستگی بین این دو عامل r=۰/۰۸ می‌باشد.

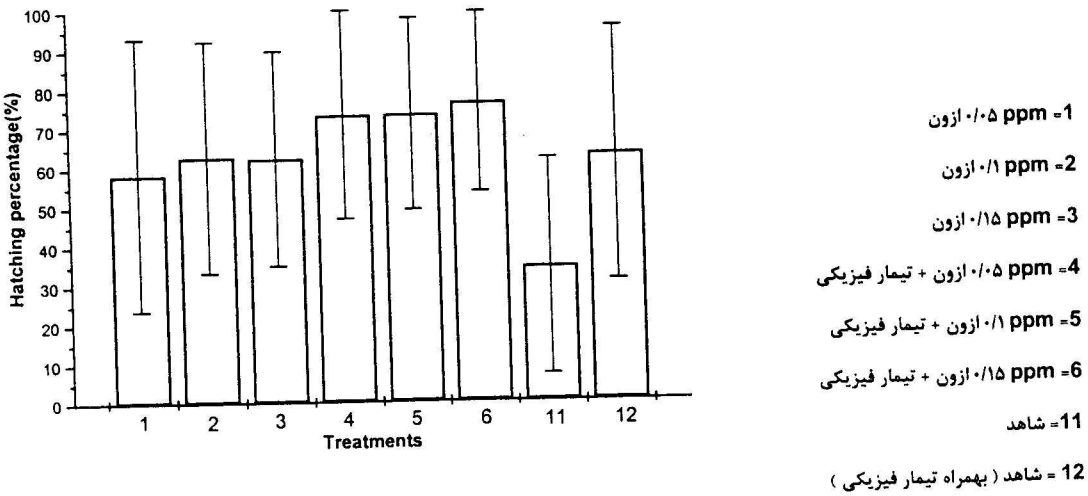


شکل ۱۰- همبستگي بين درجه حرارت آب ودرصد قارچزدگي تيمارشاهد در سال اول

۳-۲- نتایج سال دوم :

میزان تخم گشایی تیمارهای تحت گندزدایی با ازون (تیمارهای اول تا ششم) و تیمارهای شاهد (۲ تیمار یازدهم و دوازدهم) در شکل ۱۱ ارائه شده است. تیمار ششم (۰/۱۵ ppm ازون بهمراه تیمار فیزیکی) منجر به بالاترین میزان تخم گشایی (۷۶/۴٪) در بین این تیمارها شده است. میانگین تخم گشایی در ۳ تیمار چهارم تا ششم که عمل ازوناسیون بهمراه تیمار فیزیکی انجام شده است ۷۴/۳٪ است و این میانگین برای تیمارهای اول تا سوم که عمل ازوناسیون بدون تیمار فیزیکی انجام شده ۶۱/۱٪ می‌باشد. میزان تخم گشایی در تیمار یازدهم (تیمار شاهد بدون تیمار شیمیایی و فیزیکی) ۳۴/۴٪ و در تیمار دوازدهم (تیمار شاهد بهمراه تیمار فیزیکی) ۶۳٪ است (شکل ۱۱).

وجود اختلاف معنی دار ($P<0/05$ و $P<0/01$) بین تیمارهای بر شمرده در فوق در جدول ۷ مورد ارزیابی واقع شده است. مطابق این جدول ، بین تیمارهای اول تا سوم با تیمارهای چهارم تا ششم و همچنین با تیمارهای شاهد اختلاف معنی‌دار (در هر دو سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱) وجود دارد.



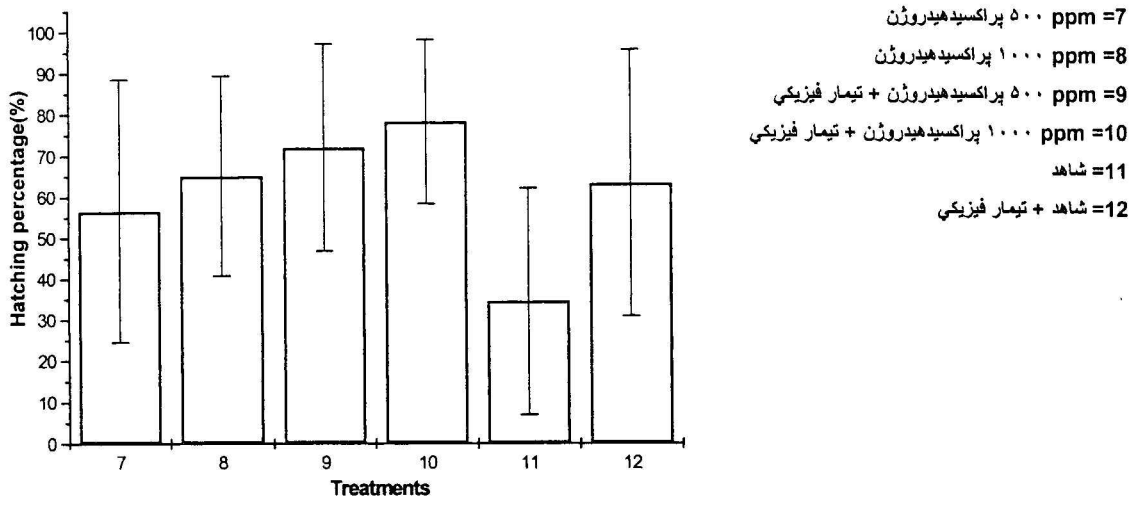
شکل ۱۱- درصد تخم گشایی در تیمارهای ازون و شاهد در سال دوم

تحقیقات
بخش پایان نامه

جدول ۷- مقایسه میانگین تیمارهای ازون و شاهد در میزان تخم گشایی در سال دوم توسط آزمون دانکن در سطوح P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱

تیمارها	P<۰/۰۱	P<۰/۰۵	± SEM	میانگین تعداد تخم گشایی
تیمارششم(۰/۱۵ ppm ازون + تیمار فیزیکی)	a	a	۷۰	۷۶۴
تیمارپنجم(۰/۱ ppm ازون + تیمار فیزیکی)	ab	ab	۷۶	۷۳۴
تیمارچهارم(۰/۰۵ ppm ازون + تیمار فیزیکی)	ab	ab	۷۸	۷۳۳
تیماردوازدهم(شاهد + تیمار فیزیکی)	ab	bc	۹۲	۶۳۰
تیمار دوم (۰/۱ ppm ازون)	ab	bc	۸۴	۶۲۷
تیمار سوم (۰/۱۵ ppm ازون)	ab	bc	۸۳	۶۲۳
تیمار اول (۰/۰۵ ppm ازون)	b	c	۱۰۷	۵۸۳
تیمار یازدهم (شاهد)	c	d	۷۳	۳۴۴

میزان تخم گشایی تیمارهای تحت گندزدایی با پراکسیدهیدروژن (تیمارهای هفتم تا دهم) و تیمارهای شاهد در شکل ۱۲ ارائه شده است. همانگونه که مشخص است، تیمار دهم (۱۰۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن + تیمار فیزیکی) منجر به بالاترین میزان تخم گشایی (۷۸٪) در مقایسه با تیمارهای دیگر شده است. میانگین تخم گشایی برای تیمارهای هفتم و هشتم که بدون تیمار فیزیکی بوده اند ۶۰/۷٪ و برای تیمارهای نهم و دهم که بهمراه تیمار فیزیکی بوده‌اند ۷۴/۹٪ است.



شکل ۱۲- درصد تخم گشایی در تیمارهای پراکسیدهیدروژن و شاهد در سال دوم

بین تیمارهای مذکور مطابق جدول ۸ اختلاف معنی دار ($P<۰/۰۱$) وجود دارد.

جدول ۸- مقایسه میانگین تیمارهای پراکسیدهیدروژن و تیمارهای شاهد در میزان تخم گشایی در سال دوم توسط آزمون دانکن در سطوح $P<۰/۰۵$ و $P<۰/۰۱$

تیمارها	$P<۰/۰۱$	$P<۰/۰۵$	± SEM	میانگین تعداد تخم گشایی
تیماردهم(۱۰۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن + تیمار فیزیکی)	a	a	۶۱	۷۸۰
تیمارنهم(۵۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن + تیمار فیزیکی)	ab	ab	۸۱	۷۱۸
تیمارهشتم (۱۰۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن)	bc	bc	۶۹	۶۵۰
تیماردوازدهم(شاهد + تیمار فیزیکی)	bc	bc	۹۲	۶۳۰
تیمار هفتم (۵۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن)	c	c	۹۸	۵۶۵
تیمار یازدهم (شاهد)	d	d	۷۳	۳۴۴

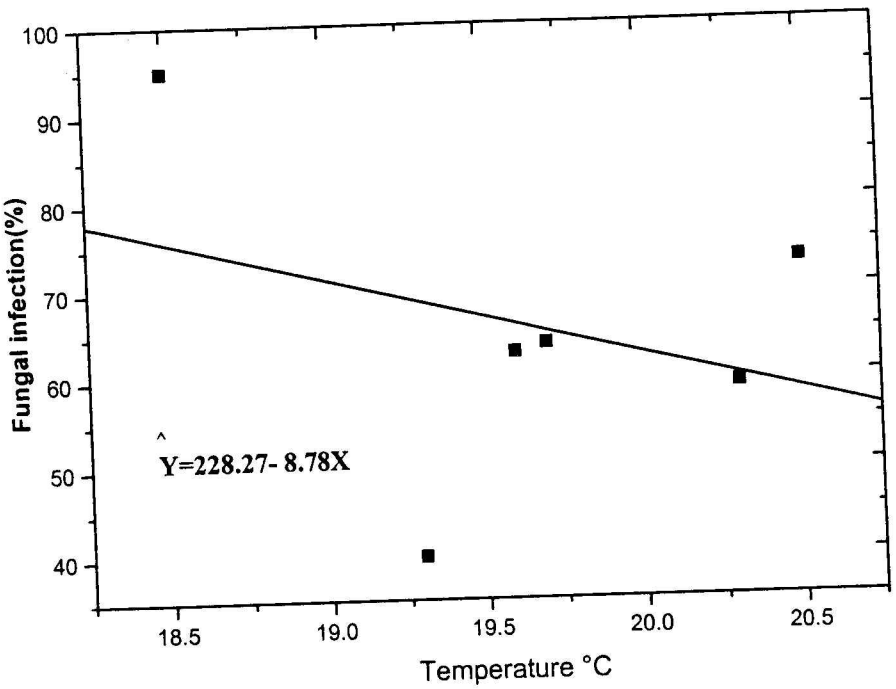
ستاد هماهنگی و اعتلای علوم و تحقیقات
بخش پایان نامه

همچنین جهت دسته بندی کلی تیمارهای سال دوم بر حسب مطلوبیت حاصله در ارتقای تخم گشایی ، جدول ۹ ارائه می‌گردد.

جدول ۹- مقایسه میانگین کلیه تیمارهای سال دوم در میزان تخم گشایی توسط آزمون دانکن در سطوح P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱

تیمارها	P<۰/۰۱	P<۰/۰۵	± SEM	میانگین تعداد تخم گشایی
تیماردهم (۱۰۰۰ppm پراکسیدهیدروژن + تیمار فیزیکی)	a	a	۶۱	۷۸۰
تیمارششم(۰/۱۵ ppm ازون + تیمار فیزیکی)	a	a	۷۰	۷۶۴
تیمارپنجم(۰/۱ ppm ازون + تیمار فیزیکی)	ab	ab	۷۶	۷۳۴
تیمارچهارم(۰/۰۵ ppm ازون + تیمار فیزیکی)	ab	ab	۷۸	۷۳۳
تیمار نهم (۵۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن + تیمارفیزیکی)	ab	abc	۸۱	۷۱۸
تیمار هشتم (۱۰۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن)	abc	bcd	۶۹	۶۵۰
تیمار دوازدهم (شاهد + تیمارفیزیکی)	bc	cd	۹۲	۶۳۰
تیمار دوم (۰/۱ ppm ازون)	bc	cd	۸۴	۶۲۷
تیمار سوم (۰/۱۵ ppm ازون)	bc	cd	۸۳	۶۲۳
تیمار اول (۰/۰۵ ppm ازون)	c	d	۱۰۷	۵۸۳
تیمار هفتم (۵۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن)	c	d	۹۸	۵۶۵
تیمار یازدهم (شاهد)	d	e	۷۳	۳۴۴

در سال دوم، همبستگی بین درجه حرارت آب سالن انکوباسیون و درصد قارچ زدگی تیمار شاهد (بدون تیمار شمیایی و فیزیکی) در شکل ۱۳ نمایش داده شده است. میزان همبستگی بین درجه حرارت آب و درصد قارچ زدگی ۰/۳۵- = r است.

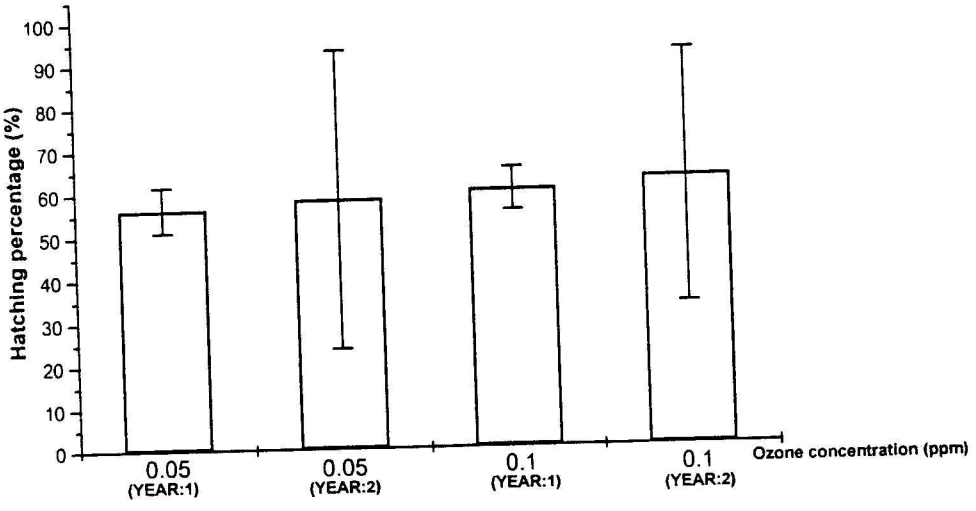


شکل۱۳ – همبستگي بين درجه حرارت آب ودرصد قارچزدگي تيمارشاهد در سال دوم

کتابخانه واحد علوم و تحقیقات
بخش پایان نامه

۳-۳- مقایسه نتایج سالهای اول و دوم :

میزان تخم گشایی حاصل از تیمارهای ازون بدون تیمار فیزیکی در سالهای اول و دوم در شکل ۱۴ ارائه شده است. به جهت آنکه در سال اول، تنها بر روی غلظت های ۰/۰۵ و ۰/۱ ppm ازون تحقیق بعمل آمده است، از اینرو جهت مقایسه میزان تخم گشایی سالهای اول و دوم، تنها غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱ سال دوم مطرح می‌گردند و غلظت ۰/۱۵ppm سال دوم مورد مقایسه واقع نمی‌شود. شکل ۱۴ نشاندهنده این موضوع است که در میان تیمارهای مذکور، غلظت ۰/۱ ppm در سال دوم منجر به بالاترین درصد تخم گشایی (۶۲/۷٪) در مقایسه با ۳ تیمار دیگر شده است.



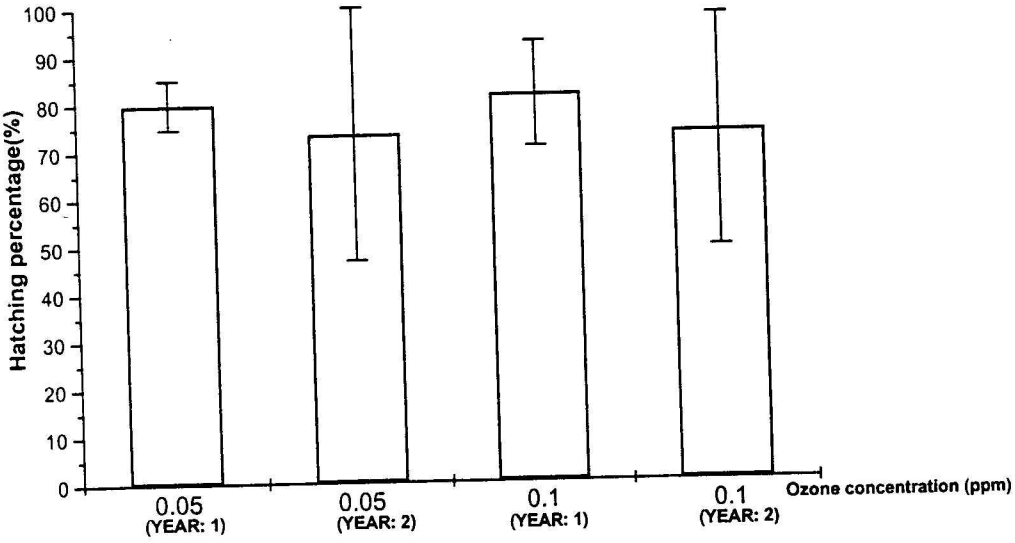
شکل ۱۴- درصد تخم گشایی تیمارهای ۰/۰۵ و ۰/۱ ppm ازون (بدون تیمار فیزیکی) در سالهای اول و دوم

متوسط درصد تخم گشایی غلظت ۰/۰۵ ppm ازون در هر دو سال ۵۷/۲٪ و این میزان برای غلظت ۰/۱ ppm ازون ۶۱/۴٪ است.[۱]

مرکز تحقیقات و علوم
بخش پایان نامه

۱- یافتن اختلاف معنی دار برای تیمارهای سال‌های اول و دوم به جهت یکسان نبودن تعداد تکرارهای آزمایش در دو سال با استفاده از آزمونهای مقایسات میانگین (دانکن) غیرقابل انجام است. در سال اول ۳ تکرار انجام شده و در سال دوم ۶ تکرار صورت گرفته است. از این بابت نتایج سال اول ودوم تنها مورد مقایسه کمی واقع میگردند.

میزان تخم گشایی حاصل از تیمارهای ازون بهمراه تیمار فیزیکی در سالهای اول و دوم در شکل ۱۵ عنوان شده است. در این نمودار نیز میزان تخم گشایی غلظت ۰/۱۵ppm ازون (بهمراه تیمار فیزیکی) که تنها در سال دوم انجام شده است، به جهت انجام نشدن در سال اول مطرح نمی‌گردد. از مقایسه تیمارهای موجود در شکل ۱۵ مشخص می‌گردد که تیمار ۰/۱ppm ازون با

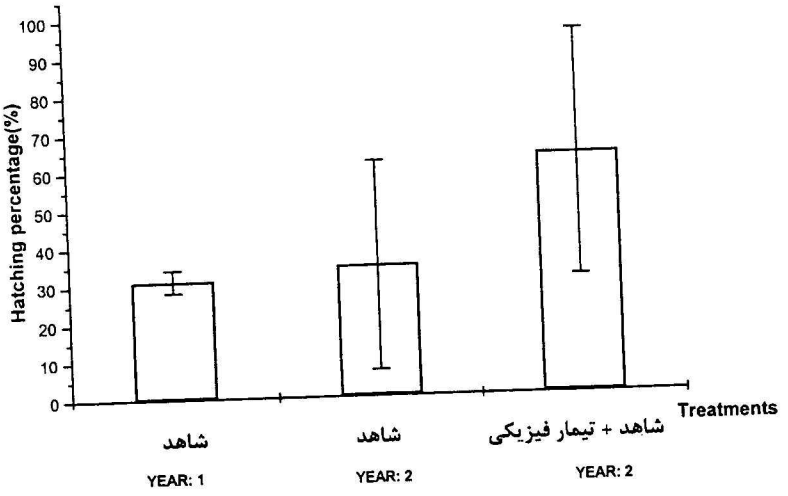


شکل ۱۵ - درصد تخم گشایی تیمارهای ۰/۰۵ و ۰/۱ ppm ازون بهمراه تیمار فیزیکی در سالهای اول و دوم

تیمار فیزیکی در سال اول موجب بالاترین درصد تخم گشایی (۸۱/۴٪) در بین ۳ تیمار دیگر شده است. متوسط درصد تخم گشایی غلظت ۰/۰۵ppm ازون بهمراه تیمار فیزیکی در هر دو سال ۷۶/۵٪ و این میانگین برای غلظت ۰/۱ppm در هر دو سال ۷۷/۴٪ است.

با مقایسه میزان تخم گشایی تیمارهای شاهد در سالهای اول و دوم بگونه‌ای که در شکل ۱۶ آمده است مشخص می‌گردد که متوسط میزان تخم گشایی در تیمارهای شاهد (بدون گندزدایی و بدون تیمار فیزیکی) در هر دو سال ۳۲/۷٪ است. بالاترین میزان تخم گشایی (۶۳٪) مربوط به تیمار شاهدی است که عمل تیمار فیزیکی برروی آن انجام گرفته است. و این عمل تنها در سال دوم اجرا شده است.

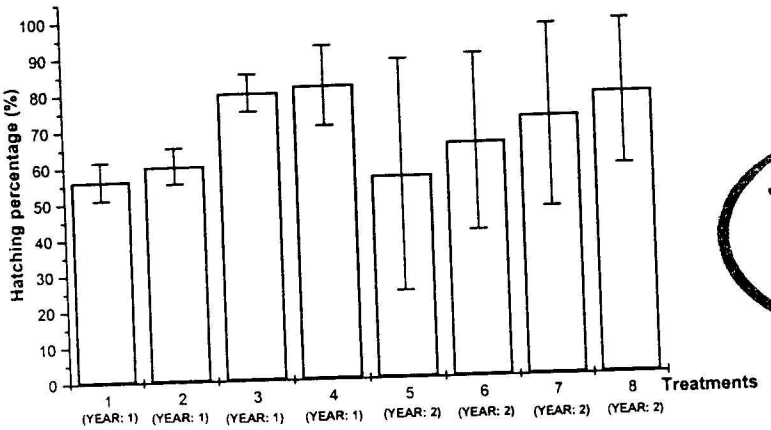
کتابخانه دانشکده علوم و تحقیقات
بخش پایان نامه



شکل ۱۶- درصد تخم گشایی تیمارهای شاهد در سالهای اول و دوم

میزان تخم گشایی تیمارهای ازون در سال اول (=۴ تیمار) و تیمارهای پراکسیدهیدروژن سال دوم(=۴ تیمار)، در شکل ۱۷ مورد مقایسه واقع شده است.[1] درصد تخم گشایی تیمار ازون با غلظت ppm ۰/۱ بهمراه تیمار فیزیکی در سال اول (۸۱/۴٪) ، نرخ بالاتری را نسبت به بقیه تیمارها حاصل داده است.

ppm =1 ۰/۰۵ ازون در سال او ل
ppm =2 ۰/۱ ازون در سال اول
ppm =3 ۰/۰۵ ازون + تیمار فیزیکی در سال اول
ppm =4 ۰/۱ ازون + تیمار فیزیکی در سال اول
ppm =5 ۵۰۰ پراکسیدهیدروژن در سال دوم
ppm =6 ۱۰۰۰ پراکسیدهیدروژن در سال دوم
ppm =7 ۵۰۰ پراکسیدهیدروژن + تیمار فیزیکی در سال دوم
ppm =8 ۱۰۰۰ پراکسیدهیدروژن + تیمار فیزیکی در سال دوم



تکمیلات
پایان نامه

شکل ۱۷- درصد تخم گشایی تیمارهای ازون سال اول و تیمارهای پراکسیدهیدروژن در سال دوم

۱ - میزان تخم گشایی تیمارهای پراکسیدهیدروژن در سال دوم با بقیه تیمارهای سال دوم در جدول ۹ مقایسه میانگین شده است.

جهت مشاهده اثر تیمار فیزیکی در ارتقای میزان تخم گشایی ، اشکال ۱۸ و ۱۹ به تفکیک به ارائه درصد تخم گشایی کلیه تیمارهای بدون تیمار فیزیکی و همچنین کلیه تیمارهای همراه با تیمار فیزیکی در هر دو سال خواهند پرداخت. میانگین درصد تخم گشایی در کلیه تیمارهای سال های اول و دوم بدون تیمار فیزیکی ۵۴٪ (شکل۱۸) و این میانگین برای کلیه تیمارهای هر دو سال که بهمراه تیمار فیزیکی بوده است ۷۴/۶٪ است (شکل ۱۹).

1= ۰/۰۵ ppm ازون در سال اول

2= ۰/۱ ppm ازون در سال اول

3= تیمار شاهد در سال اول

4= ۰/۰۵ ppm ازون در سال دوم

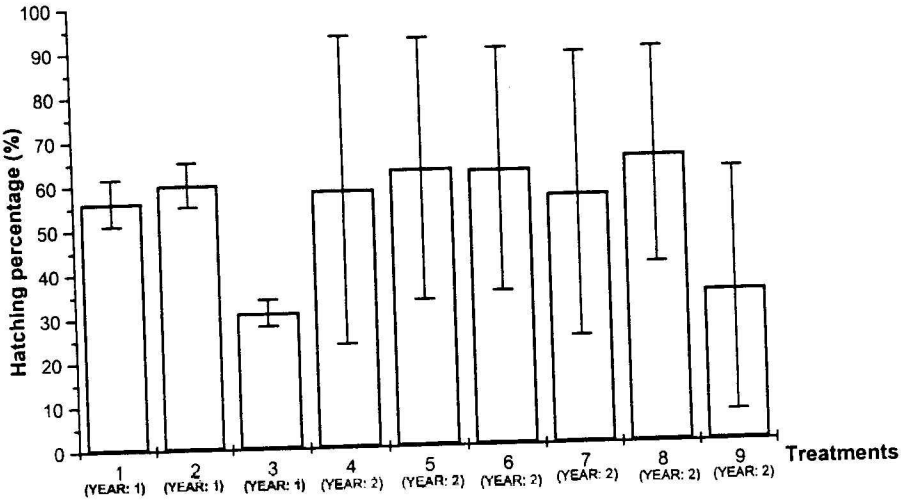
5= ۰/۱ ppm ازون در سال دوم

6= ۰/۱۵ ppm ازون در سال دوم

7= ۵۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن در سال دوم

8= ۱۰۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن در سال دوم

9= شاهد در سال دوم



شکل ۱۸- درصد تخم گشایی کلیه تیمارهای بدون تیمار فیزیکی سالهای اول و دوم

بخش پایان نامه

کتابخانه واحد علوم و تحقیقات
بخش پایان نامه

1= ۰/۰۵ ppm ازون + تیمار فیزیکی در سال اول

2= ۰/۱ ppm ازون + تیمار فیزیکی در سال اول

3= ۰/۰۵ ppm ازون + تیمار فیزیکی در سال دوم

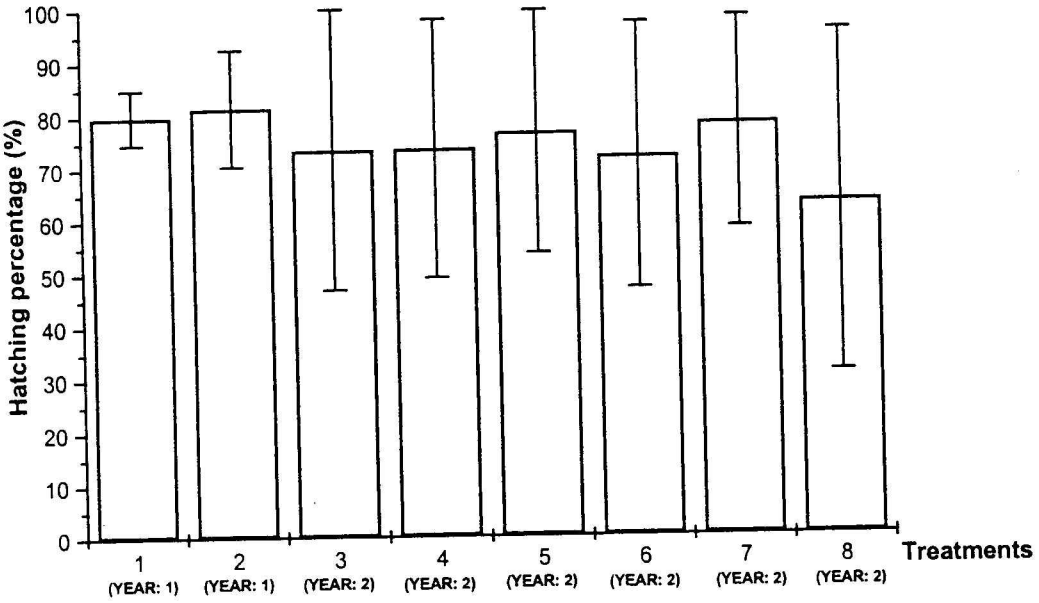
4= ۰/۱ ppm ازون + تیمار فیزیکی در سال دوم

5= ۰/۱۵ ppm ازون + تیمار فیزیکی در سال دوم

6= ۵۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن + تیمار فیزیکی در سال دوم

7= ۱۰۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن + تیمار فیزیکی در سال دوم

8= شاهد بهمراه تیمار فیزیکی در سال دوم

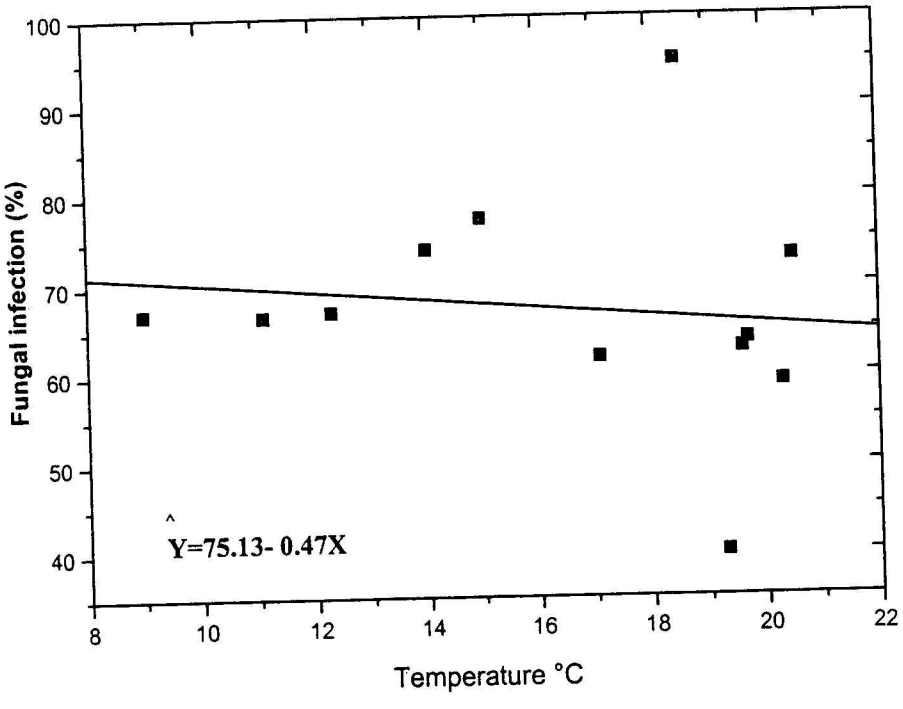


شکل۱۹-درصد تخم‌گشایی کلیه تیمارهای همراه با تیمارفیزیکی درسالهای اول و دوم

جهت مطالعه تأثیر روند درجه حرارت آب طی دو سال آزمایش در میزان قارچ زدگی تیمار شاهد[1] که بدون گندزدایی و تیمار فیزیکی بوده است، از ادغام درصد قارچزدگی در درجه حرارتهای مختلف دو سال در یکدیگر استفاده کرده و در شکل ۲۰ همبستگی بین این دو فاکتور نشان داده شده است. میزان

۱- بدلیل انجام دستکاری شیمیایی و فیزیکی در سایر تیمارها، مطالعه همبستگی بین درجه حرارت و درصد قارچزدگی آنها چندان سودمند بنظر نمی‌رسد.

همبستگی مشترک ۲سال، ۰/۱۴- =r است. گفتنی است که محدودهٔ نوسانات حرارتی آب در سال اول ۴ ± ۱۳ درجه سانتی گراد و در سال دوم این محدوده به ۱/۳ ± ۱۹/۵ درجه سانتی‌گراد بالغ شده است.



شکل ۲۰- همبستگی بین درجه حرارت آب و درصد قارچ زدگی تیمار شاهد در سالهای اول و دوم

فصل چهارم : بحث

در سال اول، میانگین تخم گشایی در تیمارهایی که در آنها تیمار فیزیکی اعمال شده است (تیمارهای سوم و چهارم) ۸۰/۶٪ می‌باشد و میانگین تخم گشایی در تیمارهایی که بدون تیمار فیزیکی بوده‌اند (تیمارهای اول و دوم) ۵۸/۱٪ بوده است (شکل ۹). از اینرو در ۴ تیمار ازون مذکور، اعمال تیمار فیزیکی با کنترل آلودگی قارچی تخم تاسماهی ایرانی (قره برون) منجر به ۲۲/۵٪ افزایش میزان تخم گشایی نسبت به تیمارهای بدون تیمار فیزیکی شده است و این موضوع بیش از پیش بر اهمیت برداشت فیزیکی و مداوم تخم های مرده و قارچ زده در روز تأکید می‌نماید. بنابرنظر Rand & Munden (1993a) تخم های مرده به قارچی شدن حساس‌ترند و آلودگی ممکن است بسرعت بر روی تخم‌های زنده گسترش یابد. Roberts (2001)، آذری تاکامی (۱۳۷۶) و مخیر (۱۳۷۴) نیز معتقدند که معمولاً ساپرولگنیا بر روی تخم‌های مرده توسعه می‌یابد و سپس از آنجا به تخم‌های سالم مجاور گسترش می‌یابد. Piper و همکاران (1982) نیز بر این باورند که آلودگی از تخم‌های خراب به تخم‌های سالم بسرعت منتقل می‌شود. Bruno & Wood (1999) معتقدند که اگر تخم‌های مرده برداشت نشوند ، رشد هیفای قارچ بر روی غشای کوریونیک تخم‌های زنده بسرعت گسترش می‌یابد. علاوه بر این، نویسندگان اخیر بر این باورند که روش اصلی کنترل قارچ بر روی تخم ماهی، برداشت تخم های مرده و قارچ زده در فواصل زمانی معین بهمراه حمام های شیمیایی است. بنابراین برداشت تخم‌های مرده و قارچ زده (تیمار فیزیکی) که در این تحقیق در تیمارهای سوم و چهارم ۵ بار در روز انجام شده است، منجر به افزایش میزان تخم گشایی نسبت به تیمارهای اول و دوم (بدون تیمار فیزیکی) شده است بطوریکه مطابق جدول ۶ اختلاف بین آنها معنی‌دار ($P<0/01$) می‌باشد.

بخش پایان نامه

میزان تخم گشایی در تیمارهای ازون (اول تا چهارم) نسبت به تیمار شاهد در سال اول اختلاف معنی دار ($P<0/01$) داشته است (جدول ۶). بنابراین سیستم ازوناسیون لحظه‌ای با زمان تماس ۱۰ دقیقه در هر روز توانسته است میزان تخم‌گشایی را بطور متوسط تا میزان ۵۸/۱٪ در تیمارهای اول و دوم و تا ۸۰/۶٪ در تیمارهای سوم و چهارم نسبت به تیمار شاهد (۳۱٪) افزایش دهد. Wedemeyer و همکاران (1979) روش تزریق دائمی را در کنترل ساپرولگنیا در تخم آزاد ماهیان اشاره نموده‌اند. روش تزریق لحظه‌ای ازون (با زمان تماس ۱۰ دقیقه) در غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱ ppm مورد آزمایش در سال اول این تحقیق جهت افزایش تخم گشایی و تولید لارو موفقیت آمیز بوده است. این موضوع از طرف دیگر موجب کاهش مصرف انرژی حداقل تا حد ۱۰ برابر کمتر نسبت به روش تزریق دائمی شده است. Forneris و همکاران (2003) نیز با زمان تماس ۱۰ دقیقه (تزریق لحظه‌ای) موفق به کنترل قارچ ساپرولگنیا در تخم قزل آلای قهوه‌ای (*Salmo trutta fario*) شده‌اند. از اینرو مطابق نظر Summerfelt و همکاران (1997) که ضرورت ازوناسیون در پائین ترین سطح ممکن و مؤثر را مورد اشاره قرار می‌دهند، در این تحقیق حاصل شده است.

هر چند تیمار چهارم (۰/۱ ppm ازون بهمراه تیمار فیزیکی) بالاترین میزان تخم‌گشایی (۸۱/۴٪) را در بین همه تیمارها دارا بوده است (شکل ۹)، و در تحقیقات صورت گرفته توسط Forneris و همکاران (2003) غلظت ۰/۱ ppm ازون بالاترین میزان تخم گشایی (۶۹/۴٪) را در بین تیمارهای مختلف ازون حاصل داده است، اما مطابق جدول ۶ اختلاف معنی‌داری ($P<0/01$) بین غلظت های ۰/۰۵ ppm (تیمار سوم) و ۰/۱ ppm (تیمار چهارم) در میزان تخم گشایی دیده نمی‌شود. از اینرو از لحاظ اقتصادی (پائین آمدن چشمگیر مصرف انرژی و هزینه نگهداری و تعمیرات سیستم ازوناسیون) تیمار سوم با غلظت ۰/۰۵ ppm ازون بهمراه جمع آوری تخم‌های مرده و قارچ زده به مدت ۵ بار در روز، بعنوان بهترین تیمار کنترل کننده قارچ در سال اول تلقی می‌گردد.

در سال دوم، میانگین تخم گشایی در تیمارهای ازون در آنهایی که تیمار فیزیکی اعمال شده است (تیمارهای چهارم، پنجم و ششم) ۷۴/۳٪ می‌باشد و میانگین تخم‌گشایی در تیمارهایی که بدون تیمار

فیزیکی بوده‌اند (تیمارهای اول، دوم و سوم) ۶۱/۱٪ بوده است (شکل ۱۱). بنابراین اعمال تیمار فیزیکی در تیمارهای ازون منجر به کنترل آلودگی قارچی می‌شود و میزان تخم گشایی را تا حد متوسط ۱۳/۲٪ نسبت به تیمارهای ازون بدون تیمار فیزیکی افزایش می‌دهد. هر چند مطابق جدول ۷ تنها در سطح P<۰/۰۵، هر ۳ تیمار ازون بهمراه تیمار فیزیکی (تیمارهای چهارم تا ششم) دارای اختلاف معنی دار با ۳ تیمار ازون بدون تیمار فیزیکی (تیمارهای اول تا سوم) هستند.

میزان تخم گشایی در تیمارهای ازون (اول تا ششم) در سال دوم نسبت به تیمار شاهد (تیمار یازدهم = بدون تیمار فیزیکی) مطابق جدول ۷ دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۱) است. بنابراین باز هم می‌توان نتیجه‌گیری کرد که سیستم ازوناسیون لحظه‌ای (۱۰ دقیقه در روز) توانسته است میزان تخم گشایی را بطور متوسط تا ۷۴/۳٪ در تیمارهای چهارم تا ششم و تا ۶۱/۱٪ در تیمارهای اول تا سوم نسبت به تیمار شاهد (۳۴/۴٪) افزایش دهد.

در تیمار دوازدهم (شاهد) که تنها تیمار فیزیکی در آن اعمال شده است، میزان تخم گشایی به ۶۳٪ بالغ شده است و مطابق جدول ۷ اختلاف معنی دار (P<۰/۰۱) در میزان تخم گشایی دو تیمار شاهد، کاملاً قابل توجه بنظر می‌رسد. از اینرو نقش تیمار فیزیکی در کنترل آلودگی قارچی تخم ماهی قره برون و ارتقای میزان تخم گشایی یکبار دیگر تأکید می‌گردد. هر چند Dettlaff و همکاران (1993) معتقدند که جمع‌آوری فیزیکی تخم‌های قارچ زده جهت جلوگیری از آلوده کردن تخم‌های زنده می‌باید انجام شود و این عمل در مواقع آلودگی پائین ساپرولگنیا باز هم ضروری است. آذری تاکامی(۱۳۷۶) و مخیر (۱۳۷۴) نیز عنوان کرده اند که تخم های مرده را می‌باید بطور مرتب از محیط جدا کرد. نکته قابل توجه دیگر در مورد میزان تخم گشایی تیمار دوازدهم اینست که مطابق جدول ۷ تنها در سطح P<۰/۰۵ دارای اختلاف معنی‌دار با تیمارهای چهارم و پنجم (تیمارهای ازون + تیمار فیزیکی) می‌باشد ولی در سطح P<۰/۰۱ با این دو تیمار اختلاف معنی‌دار ندارد و تنها با تیمار ششم اختلاف معنی‌دار دارد. از طرف دیگر، مطابق جدول ۷، تیمار دوازدهم در هر دو سطح P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱ دارای اختلاف معنی‌دار با تیمار اول (۰/۰۵ ppm ازون) می‌باشد. اگر چه تیمار دوازدهم میزان تخم‌گشایی بیشتری را از

تیمارهای ازون (دوم و سوم) بدون تیمار فیزیکی نشان داده است، ولی اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود ندارد (جدول ۶). از اینروست که اغلب کارگاههای تکثیر ماهی بطور زیادی علاقمند به انجام مرتب تیمار فیزیکی حتی بطور شبانه روزی می‌باشند که بطور عملی موجب ارتقای میزان تخم گشایی و کنترل قارچ می‌گردد.

در سال دوم، مطابق شکل ۱۲، تیمارهای نهم و دهم که در آنها گندزدایی با پراکسیدهیدروژن بهمراه تیمار فیزیکی انجام شده است بطور متوسط۷۴/۹٪ تخم‌گشایی و تیمارهای هفتم و هشتم که بدون تیمار فیزیکی بوده‌اند ۶۰/۷٪ تخم گشایی را حاصل داده‌اند. از اینرو عمل تیمار فیزیکی توانسته است میزان تخم گشایی را بطور متوسط تا ۱۴/۲٪ افزایش دهد. بنابراین نظر Bruno & Wood (1999) مبنی بر اینکه روش اصلی کنترل قارچ بر روی تخم ماهی شامل برداشت تخم‌های مرده و قارچ زده در فواصل زمانی معین بهمراه حمام‌های شیمیایی است بار دیگر در مورد تیمار پراکسیدهیدروژن بهمراه تیمار فیزیکی (همچون ازوناسیون بهمراه تیمار فیزیکی) تأئید می‌گردد. همچنین مطابق جدول ۸، اختلاف میزان تخم گشایی در تیمارهای پراکسیدهیدروژن بهمراه تیمار فیزیکی با تیمارهای پراکسیدهیدروژن بدون تیمار فیزیکی معنی‌دار ($P<0/01$) است.

میزان تخم گشایی تیمارهای پراکسیدهیدروژن نسبت به تیمار شاهد بدون تیمار فیزیکی (تیمار یازدهم) نیز دارای اختلاف معنی دار ($P<0/01$) است (جدول ۸). از اینرو اینگونه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پراکسیدهیدروژن نیز قابلیت کنترل قارچ و افزایش میزان تخم گشایی را همچون ازون داراست و تیمار تخم توسط این ماده به مدت ۱۵ دقیقه در روز مؤثر واقع می‌گردد. ولی در مقابل، تیمار شاهد بهمراه تیمار فیزیکی (تیمار دوازدهم) تخم گشایی بیشتری را از تیمار هفتم (۵۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن) حاصل داده است ولی با تیمار هشتم(۱۰۰۰ppm پراکسیدهیدروژن) اختلاف معنی داری ($P<0/01$) در میزان تخم گشایی ندارد. از اینرو می‌توان نتیجه گرفت که انجام تنها تیمار فیزیکی در تیمار شاهد با انجام تیمار شیمیایی پراکسیدهیدروژن با غلظت ۱۰۰۰ ppm در کنترل قارچ و افزایش میزان تخم گشایی قابل برابری می‌باشد.

غلظت ppm ۱۰۰۰ پراکسیدهیدروژن بهمراه تیمار فیزیکی بالاترین میزان تخم‌گشایی را در بین همه تیمارهای سال دوم حاصل داده است (۷۸٪) و اختلاف آن با میزان تخم گشایی غلظت ppm ۵۰۰ پراکسیدهیدروژن بهمراه تیمار فیزیکی (۷۱/۸٪) مطابق شکل ۱۲ و جدول ۸ معنی دار است. Marking و همکاران (1994b) نیز با غلظت های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن موفق به کنترل قارچ بر روی تخم قزل آلای رنگین کمان شدند و موجب افزایش میزان تخم گشایی گشتند. نتایج مشابهی در کنترل قارچ *Saprolegnia parasitica* بر روی تخم قزل آلای رنگین‌کمان و Chinook salmon *(Onchorhynchus tshawytscha)* با استفاده از ۲ غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن و زمان تماس ۱۵ دقیقه توسط Schreier و همکاران (1996) ، Waterstrat & (1995) Marking بدست آمده است. Dawson و همکاران (1994)، Marking و همکاران (1994a) و Schreier و همکاران (1996)، غلظت ppm ۱۰۰۰ پراکسیدهیدروژن را در افزایش تخم گشایی مناسب تشخیص دادند. همچنین وهاب‌زاده (۱۳۸۲) موفق به کنترل آلودگی قارچی و افزایش درصد تخم گشایی تخم تاسماهی ایرانی (قره برون) با استفاده از غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ ppm پراکسیدهیدروژن (بدون برداشت فیزیکی) شده است بگونه‌ای که میزان تخم گشایی در غلظت ppm ۱۵۰۰ پراکسیدهیدروژن ۶۴/۲٪ بوده است.

از دیگر یافته‌های این تحقیق در ارتباط با تیمار تخم‌ها با پراکسیدهیدروژن حاکی از این موضوع است که کلیه تیمارهای پراکسیدهیدروژن در همه تکرارهای آزمایش منجر به تأخیر در زمان تخم گشایی تخم های تحت تأثیر خود نسبت به سایر تیمارها شدند. این تأخیر بطور متوسط در حد ۷-۵ ساعت بیشتر نسبت به متوسط زمان تخم‌گشایی سایر تیمارها (ازون، شاهد) بوده است. دلیل این امر در تحقیقات آینده قابل پیگیری است.

دسته بندی کلی تیمارهای سال دوم (در سطوح ۰/۰۵ و۰/۰۱) بر حسب مطلوبیت کارایی آنها جهت مقایسه بایکدیگر در میزان تخم گشایی تاسماهی ایرانی (قره برون) در جدول ۹ ارائه شده است.

این جدول حاکی است که غلظت ppm ۱۰۰۰ پراکسید هیدروژن بهمراه تیمار فیزیکی و غلظت ppm ۰/۱۵ ازون بهمراه تیمار فیزیکی منجر به بالاترین میزان تخم گشایی در بین تیمارها می گردند بگونه ای که اختلاف معنی داری ($P< ۰/۰۱$) با یکدیگر ندارند. همچنین غلظت ppm ۰/۰۵ ازون بدون تیمار فیزیکی و غلظت ppm ۵۰۰ پراکسید هیدروژن بدون تیمار فیزیکی موجب پائین ترین میزان تخم گشایی در مقایسه با بقیه تیمارها (بجز تیمار شاهد) شده اند.

از مقایسه میزان تخم گشایی در تیمارهای شاهددر سالهای اول و دوم (شکل ۱۶)نیز مشخص می گردد که میزان تخم گشایی در تیمار شاهد (بدون گندزدایی) که تیمار فیزیکی در آن انجام شده است از متوسط تخم گشایی تیمارهای شاهد سالهای اول و دوم که بدون تیمار فیزیکی بوده اند ۳۰/۳٪ بیشتر بوده است. بنابراین اثر تیمار فیزیکی در ارتقای میزان تخم گشایی باز هم تاکید می‌گردد.

میانگین میزان تخم گشایی ۴ تیمار ازون در سال اول ۶۹٪ (شکل ۱۷) و این میانگین برای ۶ تیمار ازون سال دوم ۶۷/۷٪ (شکل ۱۱) می باشد . میانگین میزان تخم گشایی ۴ تیمار پراکسید هیدروژن در سال دوم نیز ۶۷/۸٪ است (شکل ۱۷) . بنابراین انجام تیمارهای شیمیایی ازون و پراکسید هیدروژن در حالت کلی در دو سال منجر به متوسط تخم گشایی تقریباً نزدیکی با یکدیگر شده‌اند. همچنین بار دیگر اثر تیمار فیزیکی در ارتقای میزان تخم گشایی در اشکال ۱۸ و ۱۹ خلاصه شده است. مطابق شکل ۱۸ میانگین میزان تخم گشایی در کلیه تیمارهای بدون تیمار فیزیکی در هر دو سال ۵۴٪ و مطابق شکل ۱۹ این میانگین برای کلیه تیمارهای همراه با تیمار فیزیکی در هر دو سال ۷۴/۶٪ است.

محدوده درجه حرارت آب سالن انکوباسیون در سال اول 4 ± 13 درجه سانتیگراد بود. با افزایش درجه حرارت آب تا ۱۷ درجه در ماه اردیبهشت سال اول، هیچگونه ارتباطی را بین روند درجه حرارت و میزان قارچ زدگی تخم ها در تیمار شاهد نمی‌توان پیدا کرد (شکل ۱۰) و میزان همبستگی $r= ۰/۰۸$ بوده است. در سال دوم، محدوده درجه حرارت آب سالن انکوباسیون 19.5 ± 1.3 درجه سانتی گراد بوده است. در این سال نیز بدلیل همبستگی ضعیف ($r=-۰/۳۵$)روند درجه حرارت و میزان قارچ زدگی تیمار شاهد (بدون گندزدایی و بدون تیمار فیزیکی)، ارتباط معنی داری را بین این دو عامل نمی‌توان یافت

شبستان واحد علوم و تحقیقات
بخش پایان نامه

(شکل ۱۳). از ادغام درصد قارچ زدگی در درجه حرارتهای مختلف دو سال در یکدیگر در تیمار شاهد بگونه ای که در شکل ۲۰ آمده است نیز میزان همبستگی بسیار ضعیفی (r=-0.14) بین این دو عامل وجود دارد. بنابراین اینگونه می توان استنباط نمود که در محدوده حرارتی موجود در ۲ سال آزمایش (۲۰/۸-۹ درجه سانتی گراد)، این دو پدیده (روند درجه حرارت و میزان قارچ زدگی تخم ها) مستقل از یکدیگر عمل می کنند. بنابر نظر Dettlaff و همکاران (1993) درجه حرارت در زمان انکوباسیون می باید کنترل شده باشد و نوسانات درجه حرارت آب منجر به از دست رفتن جنین و توسعه ناقص آن می گردد. همچنین Neish (1977) معتقد است که با بالا رفتن درجه حرارت تا ۲۸ درجه سا نتی گراد از گسترش آلودگی با ساپرولگنیا جلوگیری می گردد. در تحقیق حاضر، نوسانات شدید درجه حرارت در هر دو سال وجود نداشته است و این نوسان در سال دوم به مراتب کمتر از سال اول بوده است.

در این بررسی هیچگونه ناهنجاری رفتاری و شنای غیر طبیعی در لاروهای حاصله در کلیه تیمارهای ازون، پراکسید هیدروژن و شاهد در هر دو سال آزمایش مشاهده نگردید. غلظت های ازون مورد استفاده در این تحقیق (حداکثر ppm ۰/۱۵)منجر به مرگ و میر تخم ها نگردیده است. بطوریکه Forneris و همکاران (2003) و Wedemeyer و همکاران (1979) غلظت ppm۰/۳ ازون را بعنوان حد کشنده و سمی برای تخم ماهی معرفی می‌نمایند. Grotmol و همکاران (2003) غلظت ازون حتی تا میزان ppm۲ (با زمان تماس ۲ دقیقه) را مضر برای تخم گشایی تخم سه گونه ماهی دریایی تشخیص ندادند. گفتنی است در یکی از تکرارهای حذف شده آزمایشات سال دوم که بدلیل معیوب شدن یکی از دستگاههای مولد ازون، میزان زمان تماس یکی از جعبه های تخم که در معرض ppm ۰/۱۵ ازون بوده است بطور اتفاقی به حدود ۵۰ دقیقه بالغ گشت و در مشاهده تخم های جعبه مذکور در روز بعد، میزان قارچ زدگی به حد بسیار زیادی نسبت به جعبه های مجاور افزایش یافته بود. از اینرو شاید بتوان زمان تماس بیش از حد افزایش یافته ازون را با مرگ و میر احتمالی تخم ها و افزایش شیوع قارچ بر روی آنها در روز بعد مرتبط دانست .

تخم ماهی قره برون به لحاظ فیزیولوژیک به گونه ای است که حدوداً تا ساعت سی ام پس از لقاح هیچگونه عوارض قارچی شدن را از خود نشان نمی‌دهد و پس از آن ابتلاءبه قارچ را از خود بروز می‌دهد. انجام آزمایشات سال دوم، با هدف استفاده از تخم های پس از این زمان بوده است و تیمارهای سال دوم اختلاف چندانی را در مقایسه با میزان تخم گشایی تیمارهای سال اول از خود نشان نداده است. همانگونه که قبلاً گفته شد میانگین تخم گشایی ۴ تیمار ازون در سال اول ۶۹٪ (شکل ۱۷) و برای ۶ تیمار ازون در سال دوم ۶۷/۷٪ (شکل ۱۱) و این میانگین برای ۴ تیمار پراکسید هیدروژن در سال دوم ۶۷/۸٪ (شکل ۱۷) بوده است. نتیجتاً اینگونه می‌توان استنباط نمود که استفاده از شیوه های گندزدایی مختلف در کنترل آلودگی قارچی تخم تاسماهی ایرانی بعد از ساعت سی ام لقاح به منظور کاهش هر چه بیشتر استعمال ماده گندزدا (خصوصاً ازون) ارجحیت می‌یابد و می‌تواند در دستور کار قرار گیرد.

به جهت آنکه میزان واقعی تخم ماهیان خاویاری در کارگاههای تکثیر جهت انکوباسیون درهر جعبه تخم انکوباتور یوشنکو بین ۵۰-۴۰ هزار تخم می‌باشد، و در این تحقیق تنها از ۳۰±۱۰۰۰ تخم در هر جعبه جهت انجام آزمایشات ازون و پراکسید هیدروژن استفاده شده است، ضروری است تا مقدار واقعی تخم در هر جعبه تخم بمنظور کاربردی شدن نتایج اینگونه تحقیقات مورد ازوناسیون واقع گردد، بگونه ای که Grotmol و همکاران (2003) اظهار می دارند که ضرورت دارد تا میزان تخم ها نسبت به حجم ماده گندزدا اپتیمم گردد. همچنین Forneris و همکاران (2003) نیز بیان می دارند که جهت ارزیابی کارایی ازون، می‌باید تخم های بتعداد زیاد مورد آزمایش قرار گیرند. از طرف دیگر، بنابر تحقیق صورت گرفته توسط Dettlaff و همکاران (۱۹۹۳)، بالا بودن میزان تخم در انکوباتورهای یوشچنکو و عدم چرخش مناسب آب در آنها موجب تاخیر در زمان تخم گشایی نسبت به انکوباتورهای مجاور تا حد ۳۴ ساعت گردید. بنابراین تحقیق بر روی میزان مناسب تخم در هر جعبه تخم نیز می‌تواند در بهبود شرایط انکوباسیون و حفظ بیشتر سلامت تخم ها موثر واقع گردد.

پمپ ونتوری، توربین هواده و سایر تجهیزات انتقال دهنده گاز ازون بکار گرفته شده در این تحقیق، نیاز به استفاده از کمپرسور هوا را جهت انتقال گاز ازون به آب برطرف نموده است و با این کار تا میزان زیادی از هزینه های مربوط به انتقال گاز نسبت به کمپرسور (هزینه اولیه کمپرسور، هزینه مصرف انرژی) صرف جوئی شده است. در مقابل بعلت آنکه بعد از ۲ ساعت ازوناسیون مداوم (با دستگاه مولد ازون با قدرت ۲ گرم در ساعت) توسط پمپ ونتوری در یک مخزن ۱۰۰ لیتری، ۰/۰۰۵ گرم ازون ایجاد شده است (=۰/۰۵ppm)، بنابراین میزان کارایی انتقال به محلول ۰/۰۰۱۲۵ بوده است. همچنین به جهت اینکه بعد از ۲ ساعت ازوناسیون مداوم(با دستگاه مولد ازون با قدرت ۴ گرم در ساعت) با استفاده از توربین هواده ایرجت در یک مخزن ۱۰۰ لیتری، ۰/۰۱۵ گرم ازون ایجاد گردید (۰/۱۵ppm)، بنابراین میزان کارایی انتقال ازون به محلول توسط این روش ۰/۰۰۱۸۷ بوده است. میزان کارایی انتقال گاز ازون به آب که توسط Meunpol و همکاران (2003) با استفاده از کمپرسور صورت گرفت ۰/۰۰۲ بوده است. حد مطلوب سازندگان تجهیزات انتقال دهنده گاز ازون به آب توسط Dimitriou (1990) ۰/۱۵ عنوان شده است. Meunpol و همکاران (2003) نیز بنقل از شرکت Ozonia، حد انتقال گاز ازون به آب را ۰/۱۵ عنوان کرده اند. انتقال ضعیف گاز ازون به آب توسط روش های انجام شده در این تحقیق بطور اصلی بدلیل طراحی نامناسب ستون انتقال گاز به آب (ارتفاع ستون آب، ارتفاع تزریق، شکل ظرف و غیره) بوده است.

در تحلیل کلی، به جهت آنکه میزان تخم گشایی غلظت ppm ۰/۰۵ ازون بهمراه تیمارفیزیکی (۷۳/۳٪)، تفاوت قابل ملاحظه ای با غلظت های ۰/۱ و ۰/۱۵ ppm ازون بهمراه تیمار فیزیکی (بترتیب ۷۳/۴ و ۷۶/۴٪) ندارد (هر چند اختلافات آنها معنی دار (P<۰/۰۱) شده است)، بدلیل پائین آمدن چشمگیر مصرف انرژی و هزینه تعمیرات و نگهداری سیستم گرانقیمت ازوناسیون در بکارگیری غلظت های پائین تر، غلظت ۰/۰۵ppm ازون بهمراه تیمار فیزیکی، همانند سال اول بعنوان بهترین تیمارکنترل کننده قارچ در بین ۶ تیمار ازون محسوب می‌گردد. ازون بدلیل مبرا بودن از عوارض سوءزیستی و بدلیل داشتن نیمه عمر پائین و همچنین بدلیل تولید کم محصولات جانبی مضر (Summerfelt &

(Hochheimer,1997 می‌تواند بعنوان یکی از مطلوبترین مواد جایگزین جهت کنترل آلودگی قارچی استفاده گردد. نکته قابل توجه در این امر، اثر بخشی ازون در قارچ کشی در مقادیر بسیار پائین در حد ۰/۰۵ppm است که بدین علت هیچگونه آلودگی زیست محیطی را ایجاد نمی کند و ارجحیت بسیار بالایی نسبت به کم خطرترین مواد شیمیایی چون پراکسید هیدروژن دارد که در نسبتی معادل ۲۰۰۰۰ برابر ازون (۱۰۰۰ ppm پراکسید هیدروژن در مقابل ۰/۰۵ppm ازون) می‌باید جهت گندزدایی مشابه استفاده گردد.

از طرف دیگر غلظت ۱۰۰۰ ppm پراکسید هیدروژن بهمراه تیمار فیزیکی بعنوان بهترین تیمار کنترل کننده قارچ در بین تیمارها مطرح شده است (جدول ۹). اداره غذا و دارو آمریکا پراکسید هیدروژن را بعنوان یکی از کم مخاطره ترین مواد برای کنترل قارچ عنوان کرده است (Shreirer et al., 1996) ولی مجوز بکارگیری این ماده می باید پس از تحقیقات وسیعتر در مورد عاری بودن از اثرات سو، محیطی و اثرات نامطلوب بر روی تخم ولارو ماهی صادر گردد. Forneris و همکاران (2003) مضرات محیطی پراکسید هیدروژن را بیشتر از ازون ارزیابی کرده اند.

به جهت بالا بودن میزان تخم گشایی تیمار شاهد (بهمراه تیمار فیزیکی) که منجر به ۶۳٪ میزان تخم گشایی در سال دوم شده است، انتخاب کارگاههای تکثیر ماهی در استفادهٔ یا عدم استفاده از مواد شیمیایی چون پراکسید هیدروژن و ازون را دچار تردید می نماید چرا که استفاده از ۱۰۰۰ ppm پراکسید هیدروژن بهمراه تیمار فیزیکی موجب ۱۵٪ افزایش تخم گشایی نسبت به تیمار شاهد می‌شود و همچنین استفاده از ازون با غلظت ۰/۰۵ ppm بهمراه تیمار فیزیکی (=بهترین تیمار ازون به لحاظ اقتصادی) منجر به ۱۰/۳٪ افزایش در تخم گشایی در سال دوم و ۱۶/۸٪ افزایش در سال اول نسبت به تیمار شاهد شده است.

بدلیل آنکه استفاده از مالاشیت‌گرین موجب عوارض جهش زایی و نقص جنینی می‌شود (Meyer & Jorgenson ,1983; Fernandes et al., 1991; Clemmensen et al., 1984) استفاده از این گونه مواد شیمیایی در بسیاری از کشورهای دنیا ممنوع شده است (Bruno &

(Wood, 1999) و از اینرو و بکارگیری مواد شیمیایی جایگزین همانند ازون و پراکسید هیدروژن که دارای عوارض کم زیست محیطی می‌باشند می‌تواند به کاهش زیانهای وارده به تخم ولارو و همچنین محیط زیست در مقایسه با مصرف مالاشیت گرین کمک شایانی بنماید. در کارگاههای تکثیری که هنوز علاقمندی زیادی به استفاده از مالاشیت گرین وجود دارد چاره ای جز ارائه راهکارهای بهتری همچون استفاده از ازون وپراکسید هیدروژن وجود ندارد. البته هزینه اولیه ساخت و طراحی سیستم ازون نسبتاً بالاست و همچنین بدلیل داشتن ولتاژ بالا (خطرناک بودن) و سیستم پیچیده، این سیستم هزینه نگهداری و هزینه تعویض قطعات بالایی دارد و بنظر نمی‌رسد میل به توسعه این روش در کشورهای در حال توسعه ای همچون ایران در آینده نزدیک وجود داشته باشد. از اینرو در جمع بندی نهایی شاید بتوان گفت که بدلیل مخاطرات پائین پراکسید هیدروژن و بالا نبودن قیمت آن نسبت به ازون، استفاده از این ماده می‌تواند جهت مقابله با توسعه قارچ های آبزی و افزایش تولید تخم ولارو سالم بجای مالاشیت گرین و سموم دیگر قابل توصیه باشد. هر چند می‌باید به خاطر داشت که در صورت وجود آلودگی های محیطی (وجود مواد شیمیایی و آلی) در محیط آبی، به جهت آنکه پراکسید هیدروژن ترکیبات فرعی و خطرناک فراوانی را می‌تواند ایجاد کند و علاوه بر آن با توجه به غلظت بسیار بالای مورد استفاده از آن در مقابل ازون (۱۰۰۰ ppm پراکسید هیدروژن در برابر ۰/۰۵ ppm ازون)، استفاده از پراکیسد هیدروژن می‌باید با تدابیر ویژه درنمونه‌برداری های مرتب از آب جهت عاری بودن از مواد آلی صورت پذیرد. اگر چه، همانگونه که گفته شد بدلیل نداشتن تفاوت قابل توجه در میزان تخم گشایی تیمار شاهد (با جمع آوری فیزیکی تخم های مرده و قارچ زده) که عمل گندزدائی شیمیائی برروی آن انجام نشده است با تیمارهای ازون و پراکسید هیدروژن، شاید بهترین گزینه در مبارزه با قارچ، انجام تنها تیمار فیزیکی باشد که بدور از هرگونه نگرانی جهت سلامتی تخم ها و سرمایه گذاری بالا، به ارتقای قطعی تولید لارو می‌انجامد.

می باید توجه داشت که هیچیک از روش های کنترل آلودگی قارچی در تخم ماهی قادر به کنترل صددرصد قارچ نمی‌باشند. چرا که بنا به گفته Roberts & shepherd(1997) بخشی از تخم

های زنده نیز در طول رشد جنینی خواهند مرد و چنین تخم های پس از مرگ به قارچ آلوده می‌شوند و سپس آلودگی به سایر تخم های سالم مجاور نیز گسترش می‌یابد. ازون و سایر تیمار های شیمیایی و فیزیکی دیگر تنها موجب عدم گسترش و شیوع هیفای قارچ به تخم های سالم مجاور می‌گردند.

مرکز تحقیقات واحد علوم و تحقیقات
بخش پایان نامه

جمع بندی نتایج :

۱- در سال اول، انجام تیمار فیزیکی، در تیمارهای ازون بطور متوسط ۸۰/۶٪ تخم گشائی را حاصل داده است و این نسبت برای تیمارهای ازون که بدون تیمار فیزیکی بوده اند بطور متوسط ۵۸/۱٪ بوده است. از اینرو انجام تیمار فیزیکی بطور متوسط منجر به ۲۲/۵٪ افزایش در تخم گشایی شده است .

۲- در سال دوم، انجام تیمار فیزیکی در تیمار ازون بطور میانگین موجب ۷۴/۳٪ تخم گشایی و در تیمار های ازون بدون تیمار فیزیکی موجب ۶۱/۱٪ تخم گشایی شده است. بنابراین انجام تیمار فیزیکی منجر به ۱۳/۲٪ افزایش در تخم گشایی گردید.

۳- در سال دوم، انجام تیمار فیزیکی در تیمارهای پراکسید هیدروژن بطور میانگین ۷۴/۹٪ تخم گشایی و در تیمارهای پراکسید هیدروژن بدون تیمار فیزیکی ۶۰/۷٪ تخم گشایی را حاصل داده است. بنابراین ۱۴/۲٪ افزایش در تخم گشایی حاصل انجام تیمار فیزیکی است.

۴- در مجموع سالهای اول و دوم، میانگین میزان تخم گشایی در کلیه تیمارهای همراه با تیمار فیزیکی ۷۴/۶٪ و این میانگین در کلیه تیمارهای بدون تیمار فیزیکی ۵۴٪ بوده است.

۵- بدلیل افزایش قابل توجه و معنی دار($P< ۰/۰۱$) میزان تخم گشایی در تیمارهای ازون و پراکسید هیدروژن نسبت به تیمار شاهد (بدون گندزدایی و بدون تیمار فیزیکی)، ازوناسیون لحظه ای به زمان تماس ۱۰ دقیقه در روز و پراکسید هیدروژن با زمان تماس ۱۵ دقیقه در روز قادر به کنترل قارچ و افزایش قابل توجه و معنی دار ($P <۰/۰۱$)درصد تخم گشایی می‌باشد.

۶- ازوناسیون لحظه‌ای تخم (زمان تماس ۱۰ دقیقه در روز) با غلظت ۰/۰۵ ppm منجر به کاهش مصرف انرژی حداقل تا ۱۰ برابر کمتر از ازوناسیون مداوم می‌گردد.

۷- به جهت آنکه میزان تخم گشایی غلظت ۰/۰۵ppm ازون بهمراه تیمار فیزیکی تفاوت معنی داری($P < ۰/۰۱$) را با میزان تخم گشایی غلظت ۰/۱ ppm در هر دو سال ندارد و با غلظت ۰/۱۵ ppm سال دوم تفاوت معنی دار ($P < ۰/۰۱$) ولی بسیار اندکی را دارد، به جهت پائین آمدن چشمگیر مصرف

انرژی و هزینه تعمیرات و نگهداری سیستم گرانقیمت ازوناسیون، غلظت ppm ۰/۰۵ ازون، بهمراه تیمار فیزیکی به لحاظ اقتصادی بعنوان بهترین تیمار کنترل کننده قارچ از میان سایر غلظت های ازون محسوب می‌گردد.

۸- انجام تیمار فیزیکی بر روی تیمار شاهد (بدون گندزدایی) در سال دوم منجر به ۶۳٪ تخم گشایی شده است. میزان تخم گشایی تیمار شاهد (بدون گندزدایی و بدون تیمار فیزیکی) در سال اول ۳۱٪ و در سال دوم ۳۴/۴٪ است.

۹- میزان تخم گشایی در تیمار شاهد همراه با تیمار فیزیکی، تخم گشایی بیشتری را از کلیه تیمارهای ازون بدون تیمار فیزیکی و همچنین از تیمار پراکسید هیدروژن (با غلظت ppm ۵۰۰ بدون تیمار فیزیکی) نشان داده است که برخی از اختلافات بین آنها معنی دار ($P < ۰/۰۱$) است.

۱۰- در سال اول، بالاترین میزان تخم گشایی مربوط به غلظت ppm ۰/۱ ازون بهمراه تیمار فیزیکی بوده است که با غلظت ppm ۰/۰۵ (با تیمار فیزیکی) اختلافات معنی داری نداشته است. در سال دوم، بالاترین میزان تخم گشایی مربوط به غلظت ppm۱۰۰۰ پراکسید هیدروژن بهمراه تیمار فیزیکی بوده که با غلظت ppm۰/۱۵ ازون بهمراه تیمار فیزیکی اختلاف معنی داری نداشته است.

۱۱- میانگین میزان تخم گشایی در ۴ تیمار ازون سال اول ۶۹٪، در ۶ تیمار ازون سال دوم ۶۷/۷٪ و در۴ تیمار پراکسید هیدروژن سال دوم ۶۷/۸٪ است. این موضوع از ۲ جنبه اهمیت می‌یابد:

۱) تیمارهای ازون و پراکسید هیدروژن اختلاف آنچنانی را در میزان تخم گشایی در دو سال ایجاد نکردند.

۲) گندزدایی شیمیایی در سال اول از ابتدای زمان انکوباسیون انجام شد و در سال دوم از ساعت سی ام پس از لقاح آغاز گردید و از اینرو اختلاف قابل توجهی در میزان تخم گشایی این دو سال دیده نمی‌شود و از اینرو استعمال مواد گندزدا بعد از ساعت سی ام درتخم این ماهی به منظور کاهش هر چه بیشتر مصرف آنها منطقی بنظر می‌رسد.

۱۲- همبستگی بسیار ضعیفی بین میزان درجه حرارت آب در محدوده ۲۰/۸- ۹ درجه سانتیگراد و درصد قارچ زدگی تیمار شاهد (بدون تیمار فیزیکی) در دو سال وجود (r=-0/14).

۱۳- غلظت ازون مورد استفاده در این تحقیق (حداکثر ۰/۱۵ppm) منجر به مرگ و میر تخم ها نگردید. همچنین هیچگونه ناهنجاری رفتاری و بد شکلی در لاروهای حاصله کلیه تیمارها مشاهده نگردید.

۱۴- میزان کارایی انتقال گاز ازون به آب توسط پمپ ونتوری ۰/۰۰۱۲۵ و توسط توربین هواده ایرجت ۰/۰۰۱۸۷ بوده است.

۱۵- ازون و پراکسید هیدروژن می توانند بعنوان جایگزینی مناسب تراز مالاشیت گرین و سموم خطرناک دیگر باشند ولی هزینه بالای سیستم ازوناسیون و همچنین بالا بودن مقدار پراکسید هیدروژن مصرفی (در حد ppm ۱۰۰۰) خصوصاً در آبهای حاوی آلودگی آلی، استفاده از این دو روش مناسبتر را با محدودیت مواجه می‌سازد. از طرف دیگر به جهت بالا بودن درصد تخم گشایی تیمار شاهد همراه با تیمار فیزیکی که اختلاف آنچنانی با تیمارهای ازون و پراکسید هیدروژن (همراه با تیمار فیزیکی) در میزان تخم گشایی ندارد،استفاده یا عدم استفاده از مواد شیمیایی در گندزدایی تخم ها را می‌تواند با تردید روبرو سازد.

بخش پایان نامه

پیشنهادات :

۱- انجام تیمار فیزیکی با برداشت مداوم و شبانه روزی تخم های مرده و قارچ زده پس از ساعت سی ام لقاح در تخم تاسماهی ایرانی (قره برون) به منظور افزایش به مراتب بالاتر میزان تخم گشایی نسبت به تیمار شاهد توصیه می‌گردد.

۲- انجام تیمارهای شیمیایی ازون و پراکسید هیدروژن نیز بعد از ساعت سی ام لقاح در کارگاههایی که اصرار به گندزدایی شیمیایی دارند جهت ارتقای میزان تخم گشایی و همچنین جهت جایگزینی با سموم از رده خارجی چون مالاشیت گرین، قابل توصیه می‌باشد.

۳- جهت استفاده از ازون در گندزدایی، به لحاظ اقتصادی و کاهش استهلاک سیستم ازوناسیون، بکارگیری غلظت ppm ۰/۰۵ ازون بازمان تماس ۱۰ دقیقه در هر روز پیشنهاد می‌شود.

۴- در صورت عدم وجود آلودگی های شیمیایی و آلی در آب سالن انکوباسیون، بکارگیری غلظت ppm۱۰۰۰ پراکسید هیدروژن به مدت ۱۵ دقیقه در هر روز پیشنهاد می‌گردد.

۵- تحقیقات بیشتری بر روی افزایش کارایی تجهیزات ارزان و مقرون به صرفه مولد ازون و انتقال دهنده گاز به آب می باید انجام گیرد تا از استهلاک و هزینه های سیستم ازوناسیون تا حد ممکن بکاهد.

۶- به جهت بالا نبودن آنچنانی اختلاف میان میزان تخم گشایی تیمار شاهد بهمراه تیمار فیزیکی با تیمارهای ازون و پراکسید هیدروژن (بهمراه تیمار فیزیکی)، انجام تنها تیمار فیزیکی بر روی تخم ها جهت اطمینان از سلامت قطعی تخم و لاروهای حاصله نسبت به تخم هایی که تحت مواد شیمیایی مذکور قرار گرفته اند می‌تواند قابل توصیه باشد.

۷- به جهت آنکه میزان واقعی تخم ماهیان خاویاری در کارگاههای تکثیر جهت انکوباسیون درهر جعبه تخم انکوباتور یوشچنکو بین ۵۰-۴۰ هزار تخم می‌باشد، و در این تحقیق تنها بطور میانگین از ۱۰۰۰ تخم در هر جعبه جهت انجام آزمایشات ازون و پراکسید هیدروژن استفاده شده است، ضروری است تا

مقدار واقعی تخم در هر جعبه تخم بمنظور کاربردی تر شدن نتایج اینگونه تحقیقات مورد آزمایش واقع گردد.

۸- انجام تحقیقات تکمیلی و دقیق در زمینه بررسی اثرات احتمالی سوء ازون و پراکسید هیدروژن بر روی تخم ها و لاروهای حاصله پیشنهاد می‌گردد.

۹- بررسی تحقیقاتی سایر شرایط مدیریتی مرتبط با تکثیر و انکوباسیون تخم ها در زمان بکارگیری تیمار شیمیایی ازون و پراکسید هیدروژن قابل اهمیت می باشد.

منابع مورد استفاده

۱- آذری تاکامی، قباد. ۱۳۷۶. مدیریت بهداشتی وروشهای پیشگیری و درمان بیماریهای ماهی. انتشارات پریور. صفحات ۷۰-۱۱۵.

۲- سادات اخوی، سید رضا. ۱۳۷۲. بررسی آلودگی‌های قارچی تخم تاسماهیان در کارگاه تکثیر و پرورش ماهی شهید بهشتی. پایان‌نامه دکترای دامپزشکی دانشگاه تهران. صفحات ۶۵-۲۰.

۳- شفیع زاده، پرویز. ۱۳۸۱. تعیین ومقایسه شاخص درمانی داروهای ضد قارچی فرمالین، سبز مالاشیت و پرمنگنات پتاسیم در تاسماهی ایرانی(قره برون). پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس. ۳۵ ص.

۴- کیوان، امین. ۱۳۸۲. ماهیان خاویاری ایران. انتشارات نقش مهر. صفحات ۲۹۰-۵۵.

۵- مخیر، بابا. ۱۳۷۴. بیماریهای ماهیان پرورشی. انتشارات دانشگاه تهران. ۴۲۸ ص.

۶- وهاب زاده، حبیب. ۱۳۸۲. ارزیابی کارایی پراکسید هیدروژن و لوامیزول کلراید در تیمار تخم ها و نوزادان تاسماهی ایرانی و کپور ماهیان چینی. رساله دکتری دانشگاه آزاد علوم و تحقیقات تهران. ۱۰۲ ص.

[7] **Arimoto, M., Sato, J., Maruyama, K., Mimura, G., Furusawa, I., 1996.** Effect of chemical and physical treatment on the inactivation of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV). Aquaculture 143, 15-22.

[8] **Bablon *et al.*, 1991**. Fundamental aspects; Practical Application of Ozone. In: Langlais, B., Reckhow, D.A., Brink, D.R. (Eds.), Ozone in Water Treatment: Application and Engineering. American Water Works Association Research Foundation. Denver, CO. pp. 11-316.

[9] **Bader, H., Hoigne, J., 1981**. Determination of ozone in water by the indigo method. Water Res. 15, 449-456.

[10] **Bailey, T.A., 1983**.Method for in vitro screening of aquatic fungicides. Journal of Fish Diseases 6, 91-100.

[11] **Baker, B., 1986**. Ozonation of hatchery water supply at Coleman National Fish Hatchery. Procceedings of the Northwest Fish Culture Conference, Eugene, Oregon.

[12] **Beakes, G.W., 1983**. A comparative account of cyst coat ontogeny in saprophytic and fish lesion isolates of the *Saprolegnia diclina-parasitica* complex. Canadian Journal of Botany 61, 603-625.

[13] **Benoit, R.F., Matlin, N.A., 1966**. Control of saprolegniasis on eggs of rainbow trout *(Salmo gairdneri)* with ozone. Transaction of the American Fisheries Society 95, 403-412.

[14] **Bly, J.E., et al., 1994**. Channel catfish, *Ictalarus punctatus*, immunity to *Saprolegnia* sp. Journal of Applied Aquaculture 3, 35-50.

[15] **Bly, J.E., et al., 1996.** Therapeutic and prophylactic measures for winter saprolegniosis in channel catfish. Disease of Aquatic Organisms 24, 25-33.

[16] **Bly, J.E., et al., 1997**. Inhibition of *Saprolegnia* pathogenic for fish by Pseudomonas fluorescens. Journal of Fish Diseases 20, 35-40.

[17] **Botzenhart, K., Tarcson, G., Ostruschka, M.,1993**. Inactivation of bacteria and coliphages by ozone and chlorine dioxide in a continuous flow reactor. Wtr. Sci. Tech. 27, 363-370.

[18] **Brazil, B.L., Summerfelt, S.T., Libey, G.S., 1996**. Application of ozone to recirculating aquaculture systems. Conference Proceedings, Northeast Regional Agricultural Engineering Service, July 1996, Ithaca, NY, pp. 373-389.

[19] **Bruno, D.W., Wood, B.P., 1999**. *Saprolegina* and other Oomycetes. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W.(Eds.), Fish Disease and Disorders: Viral, Bacterial and Fungal Infections. CABI Publishing. pp. 599-659.

[20] **Bullock, G.L, Summerfelt, S.T., Noble, A., Durant, M.D., Hankins, J.A., 1997.** Ozonation of recirculating rainbow trout culture system: I. Effects on bacterial gill disease and heterotrophic bacteria. Aquaculture 158, 43-55.

[21] **Carpendale, M.T.F., Freeberg, J.K., 1991**. Ozone inactivates HIV at noncytotoxic concentration. Antiviral Research 16(3), 281-292.

[22] **Chang, P.S., Chen, L.J., Wang, U.C., 1998**. The effect of ultraviolet irradiation, heat, pH, ozone, salinity and chemical disinfectants on the infectivity of white spot syndrome baculvirus. Aquaculture 166, 1-17.

[23] **Chang, S., Singer, P.C., 1991**. The impact of ozone on particulate stability and the removal of TOC and THM precursors. J. Am. Water Works Assoc. 83(3), 71-79.

[24] **Clemmensen, S., et al., 1984.** Toxicological studies on malachite green. Archives of Toxicology 56, 43-45.

[25] **Cline, T.F., Post, G., 1972**. Therapy for trout eggs infected with *Saprolegnia*. Progressive Fish Culturist 34, 148-151.

[26] **Colberg, P.J., Lingg, A.J., 1978**. Effects of ozonation on microbial fish pathogens, ammonia, nitrate and BOD in simulated reuse hatchery water. J. Fish Res. Board Can. 35, 1290-1296.

[27] **Conrad, J.F., Holt, R.A., Kreps, T.D., 1975**. Ozone disinfection of flowing water. Prog. Fish Cult. 37, 134-136.

[28] **Cranfield, H.I., 1947**. Artificial propagation of those channel cats. Prog. Fish Cult. 16, 122-124.

[29] **Cryer, E., 1992**. Recent applications of ozone in freshwater fish hatchery systems. In: Blogoslawski, W.J. (Ed.), Proceeding of the 3rd International Symposium on the Use of Ozone in Aquatic Systems. International Ozone Association. Pan American Committee, Norwalk, CT, pp. 134-154.

[30] **Dawson, V.K., Rach, J.J., Schreier, T.M., 1994**. Hydrogen peroxide as a fungicide for fish culture. Bulletin of the Aquaculture Association of Canada 2, 54-56.

[31] **Dettlaff, T.A., Ginsburg, A.S., Schmalhausen, O.I., 1993.** Sturgeon Fishes. Translated by Gause, G.G., Vassetzky, S.G., Springer-Verlag Publication. Berlin, 300 pp.

[32] **Dieguez-Uribeondo, J., et al., 1996**. Physiological characterization of *saprolegnia parasitica* isolates from brown trout, Aquaculture 140, 274-257.

[33] **Dimitriou, M.A., 1990**. Design guidance manual for ozone systems. International Ozone Association, Pan American Committee, Norwalk, CT.

[34] **Duvivier, L., Leynen, M., van Damme, A., Ollevier, F., 1996**. Fighting zebra mussel foulding with ozone. In Proceedings of the EPRI PSE Service Water Systems Reliability Improvement Seminar. EPRI, Daytona Beach, FL.

[35] **Edgell, P., Lawseth, D., Mclean, W.E., Britton, E.W., 1993**. The use of salt solutions to control fungus *(saprolegnia)* infestations on salmon eggs. Prog. Fish Cult. 55, 48-52.

[36] **Edwards, M., Boller, M., Benjamin, M.M., 1993**. Effect of pre-ozonation on removal of organic matter during water treatment plant operations. Water Sci. Technol. 27(11), 37-45.

[37] **Facile, N., Barbeau, B. Prevost, M., Koudjonou, B., 2000**. Evaluating bacterial aerobic spores as a surrogate for Giardia and Cryptosporidium inactivation by ozone. Wtr. Res., 34(12), 3238-3246.

[38] **Fernandes, C., et al., 1991**. Enhancing effect of malachite green on the development of hepatic pre-neoplastic lesions included by N-nitrosodiethylamine in rats. Carsinogenesis 12, 839-845.

[39] **Finch, G.R., Smith, D.W., Stiles, M.E., 1988**. Dose–response of *Escherichia coli* in ozone demand–free phosphate buffer. Wtr. Res. Tech. 22, 1563-1570.

[40] **Fisher, C.W., Lee, D., Dodge, B.A., Hamman, K.M., Robbins, J.B., Martin, S.E., 2000**. Influence of Catalase and Superoxide Dismutase on Ozone Inactivation of *Listeria monocytogenes*. Appl. Environ. Microbiol. 66(4), 1405-1409.

[41] **Flogstad, H., Odegaard, H.O., 1985.** Treatment of Humic waters by Ozone. Ozone Sci. Eng. 7(2), 121-130.

[42] **Forneris, G., Bellardi, S., Palmegiano, G.B., Saroglia, M., Sicuro, B., Gasco, L., Zoccarato, I., 2003**. The use of ozone in trout hatchery to reduce saprolegniasia incidence. Aquaculture 1, 157-166.

[43] **Gowswami, M., Anitha, G., 2001**. Role of ozone in aquafarming. Fish Farmer 15(5), 12-13.

[44] **Grotmol, S.,Totland , G.K., 2000.** Surface disinfection of Atlantic halibut *(Hippoglossus hippoglossus)* eggs with ozonated sea water inactivates nodavirus and increases survival of the larvae. Dis. Aquat. Org.39, 89-96.

[45] **Grotmol, S., Dahl-Paulsen, E., Totland, G.K., 2003.** Hatchability of eggs from Atlantic cod, turbot and Atlantic halibut after disinfection with ozonated seawater. Aquaculture 221, 245-254.

[46] **Gurusiddaiah, S. et al., 1986**. Characterization of an antibiotic produced by a strain of *Pseudomonas fluorescens* inhibitory to *Gaeumannomyces graminis*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 29, 488-495.

[47] **Haag, W.R. et al., 1984**. Improved Ammonia Oxidation by Ozone in the Presence of Bromide Ion During water Treatment. Wtr. Res., 18(9), 1125.

[48] **Hall, R.M., Sobsey, M.D., 1993**. Inactivation of Hepatitis A virus and MS2 by ozone and ozone-hydrogen peroxide in bufferd water. Wtr. Sci. Tech. 27, 371-378.

[49] **Hatai, K., Hoshia, G.I., 1993.** Characteristic of two *Sprolegnia* species from coho salmon with saprolegniosis, Journal of Aquqtic Animal Health 5, 115-118.

[50] **Hatai, K., Willoughby, L.G., 1988**. *Saprolegnia parasitica* from the rainbow trout inhibited by the bacterium. Transactions of the British Mycological Society 83, 257-263.

[51] **Hsieh, J.L., Chikarmane, H.M., Smolowitz, R., Uhlinger, R.K., 2002.** Microbial analysis of ozone disinfection in a recirculating seawater system. Biological Bulletin 203, 266-268.

[52] **Hirayama, K., Mizuma, H., Mizue, Y., 1988.** The accumulation of dissolved orgainc substances in closed recirculation culture systems. Aquacult. Eng. 7, 73-87.

[53] **Killops, S.D., 1986.** Volatile Ozonation Products of Aqueous Humic Material. Wtr. Res. 20 (2), 153-159.

[54] **Komanapalli, I.R., Mudd, J.B., Lau, H.S., 1997.** The effects of ozone on the metabolic activities of *Escherichia coli* K-12. Toxicol. Lett. 90, 61-66.

[55] **Krumins, V., Ebeling, J., Wheaton, F., 2001.** Part-day ozonation for nitrogen and organic carbon control in recirculating aquaculture systems. Aquac. Eng. 24, 231-241.

[56] **Langlais, B., Reckhow, D.A., Brink, D.R., 1991.** Ozone in Water Treatment: Application and Engineering. Lewis Publishers. Ann Arbour, MI.

[57] **Larson, M.A., Marinas, B.J., 2003.** Inactivation of *Bacillus subtilis* spores with ozone and monochloramine. Wtr. Res. 37, 833-844.

[58] **Lovetro, D., 1998.** Hydrogen peroxide in freshwater and marine aquaculture. Northern Aquaculture, Salmon Health Report 98, 13-15.

[59] **Leynen, M., Duvivier, L., Girboux, P., Ollevier, F., 1998.** Toxicity of ozone to fish Larvae and *Daphnia magna*. Ecotoxicology and Environmental Safety 41, 176-179.

[60] **Liltved, H., Hektoen, H., Efraimsen, H., 1995.** Inactivation of bactrial and viral fish pathogens by ozonation or irradiation in water of different salinity. Aquac. Eng. 14, 107-122.

[61] **Lucchetti, G.L., Gray, G.A., 1988.** Water reuses systems: a review of principal components. Prog. Fish Cult. 50, 1-6.

[62] **Maire, D., 1979.** Microflocculation by Ozone. In Oxidation Techniques in Drinking water Treatment, EPA-570/9-79-020, pp. 394-417.

[63] **Marking, L.L., Rach, J.J., Schreier, T.M., 1994a.** Search for antifugal agents in fish culture. In: Mueller G.J. (Ed.) Salmon Saprolegniasis. US Department of Energy, Portland, pp. 131-148.

[64] **Marking, L.L., Rach, J.J., Schreier, T.M., 1994b.** Evaluation of antifungal agents for fish culture. Prog. Fish Cult. 56, 225-231.

[65] **Masschelein, W.J., 1998.** Ozone generation: use of air, oxygen, or air simpsonized with oxygen. Ozone Sci. Eng. 20, 191-203.

[66] **Meunpol, O., Lopinyosiri, K., Menasveta, P., 2003**. The effects of ozone and probiotics on the survival of black tiger shrimp *(Penaeus monodon)*. Aquaculture 220, 437-448.

[67] **Meyer, F.P., Jorgenson, T.A., 1983.** Teratological and other effects of malachite green on development of rainbow trout and rabbits. Transaction of American Fishery Society 112, 818-824.

[68] **Meyer, F.P., Schnick, R.A., 1989**. A review of chemical used for the control of fish diseases. Aquativ Sciences 1. 693-710.

[69] **Monroe, D.W., Key, W.P., 1980**. The Feasibility of Ozone for Purification of Hatchery Waters. Ozone Sci. Eng. 2 (3), 203-224.

[70] **Neish, G.A., 1975.** Observation on the growth and morphology of Emerson's *Saprolegnia* sp. 47-15a. Canadian Journal of Botany 53, 1423-1427.

[71] **Neish, G.A., 1977**. Observations on Saprolegniasis of adult sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*. J. Fish Biol. 10, 513-522.

[72] **Neish, G.A., Hughes, G.C., 1980**. Diseases of Fishes Book 6.Fungal Diseases of Fishes. T.W.F. Publications. New Jersey. 159 pp.

[73] **Nickols, D., Varas, A.J., 1992**. Ozonation. In: Bryant, E.A., Fulton, G.P., Budd, G.C. (Eds.), Disinfection Alternatives for Safe Drinking Water. Van Nostrand Reinhold, New York. pp.196-258.

[74] **Noga, E.J., 1993**. Water mold infections in freshwater fish: Recent advances. Annual Review of Fish Disease, 3, 291-304.

[75] **Oseid, D.M., 1977**. Control of fungus growth on fish eggs by *Asellus militaris* and *Gammarus pseudolimnaeus*. Transactions of the American Fisheries Society 106, 192-195.

[76] **Otte, G., Rosenthal, H., 1979**. Management of a closed brackish water system for high density fish culture by biological and chemical treatment. Aquaculture 18, 169-181.

[77] **Owsley, D.E., 1991**. Ozone for disinfecting hatchery rearing water. In Colt, J., White, R.J. (Eds.), American Fisheries Society Symposium 10, 417-420.

[78] **Ozawa, T., Yotsumoto, H., Sasaki, T., Nakayma, S., 1991.** Ozonation of Seawater- Applicability of Ozone for Recycled Hatchery Cultivation. Ozone Sci. Eng. 13, 697-710.

[79] **Paller, M.H., Lewis, W.M., 1988**. Use of ozone and fluidized–bed biofilters for increased ammonia removal and fish loading rates. Prog. Fish cult. 50, 141-147.

[80] **Phelps, R.P., Walser, C.A., 1993**. Effect of sea salt on the hatching of channel catfish eggs. Journal of Aquatic Animal Health 5, 205-207.

[81] **Pickering, A.D., Willoughby, L.G., 1982**. *Saprolegnia* infections of salmonid fish. In: Roberts, R.J., (ed). Microbial Diseases of Fish, London, pp. 271-279.

[82] **Piper, R.G., et al., 1982**. Fish Hatchery Management. US Fish and Wildlife Service, Washington, DC,717 pp.

[83] **Rach, J.J., Schreier, T.M., Howe, G.E., Redman, S.D., 1997.** Effect of Species, Life Stage, and Water Temperature on the Toxicity of Hydrogen Peroxide to Fish. Prog. Fish Cult. 59(1), 41-46.

[84] **Rand, T.G., Munden, D., 1993a**. Involvement of zoospores of *Saprolegnia diclina* in the attachment to and invasion of eggs of brook trout under experimental conditions. Journal of Aquatic Animal Health 5, 233-239.

[85] **Rand, T.G., Munden, D., 1993b.** Chemotaxis of *Saprolegnia diclina* zoospores. Journal of Aquatic Animal Health 5, 240-245.

[86] **Rath, J.J., Marks, J.A., Dawson, V.K., 1995**. Effect of water flow rates in hatching jars to control fungal infections of rainbow trout eggs. Prog. Fish cult. 57, 226-230.

[87] **Reckhow, D.A., Edzwald, J.K., Tobiason, J.E., 1993**. Ozone as an Aid to Coagulation and Filtration. American Water Works Association, Denver, CO.

[88] **Rice, R.G., Wilkes, J.F., 1992**. Fundamental aspects of ozone chemistry in recircluating cooling water systems: data evaluation needs. Ozone Sci. Eng. 14, 329-365.

[89] **Rice, R.G., Robson, C.M., Miller, G.W., Hill, A.G., 1981**. Uses of ozone in drinking water treatment. J. Am. Water Works Assoc. 73, 1-44.

[90] **Roberts, R.J., 2001.** Fish Pathology. W. B. Sauners Publication. 472 pp.

[91] **Roberts, R.J., Shepherd, C.J., 1997**. Handbook of trout and salmon diseases. Blackwell Science Inc. 256 pp.

[92] **Rogers, W.A., 1958**. Diseases of catfish eggs. In: Plumb, J.A.(ed.) Principal Diseases OF Farm Raised Catfish. Southern Cooperative Series Bulletin No. 225, Auburn University, Auburn, p. 49.

[93] **Roselund, B.D., 1975**. Disinfection of hatchery influent by ozonation and the effects of ozonated water on rainbow trout. In: Blogoslawski, W.J., Rice, R.G. (Eds.), Aquatic Applications of Ozone. International Ozone Institute, Stamford, CT, pp. 59-69.

[94] **Rosenthal, H., 1980**. Ozonation, and sterilization. In: Symposium on New Developments in Utilization of Heated Effluents and of Recirculation Systems for Intensive Aquaculture. FAO EIFAC Symp., European Inland Fisheries Advance Committee, Norway, 75 pp.

[95] **Rosenthal, H., Kruner, G., 1985**. Treatment efficiency of an improved ozonation unit applied to fish culture situations, Ozone Sci. Eng. 7, 179-190.

[96] **Rosenthal, H., Otte, G. 1980.** Ozonation in an intensive fish culture recycling system. Ozone Sci. Eng. 1, 319-327.

[97] **Rosenthal, H., Wilson, J.S., 1987**. An updated bibliography (1845-1986) on ozone, its biological effects and technical applications. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences No. 1542. Department of Fisheries and Oceans, Halifax, Canada.

[98] **Rueter, J., Johnson, R., 1995**. The use of ozone to improve solids removal during disinfection. Aquac. Eng. 14, 123-141.

[99] **Sako, H., Sorimachi, M., 1985**. Susceptibility of fish pathogenic viruses, bacteria and fungus to ultraviolet irradiation and the disinfectant effect of UV-ozone water sterilizer on the pathogens in water. Bulletin of the National Reaserch Institute of Aquaculture 8, 51-58.

[100] **Sander, E., Rosenthal, H., 1975**. Application of ozone in water treatment for home aquaria, public aquaria, and for aquaculture purposes. In: Blogoslawski, W.J., Rice, R.G. (Eds.), Aquatic Applications of Ozone. International Ozone Institute, Stamford, CT, pp. 103-114.

[101] **Schreier, T.M., Rach, J.J., Howe, G.E., 1996**. Efficacy of formalin, Hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal–infected rainbow trout eggs. Aquaculture 140, 323-331.

[102] **Schuur, A.M., 2003**. Evaluation of biosecurity applications for intensive shrimp farming. Aquac. Eng. 28, 3-20.

[103] **Schwaiger, J., et al., 1995**. Evaluation of genotoxic effects of malachite green oxalate by two *in vivo* tests using adult fish and fish eggs. In: European

Association of Fish PathologistsSeventh International Conference, Spain, Abstracts Book, p. 9.

[104] **Seymour, R.L., 1970**. The genus *Saprolegnia*. Nova Hedwigia 19, 1-124.

[105] **Singh, S., Ebeling, J.M., Wheaton, F.W., 1999**. Water quality trails in four recirculating aquaculture system configurations. Aquac. Eng. 20, 75-84.

[106] **Sobsey, M.D., 1989**. Inactivation of Health Related Microorganisms in Water by Disinfection Processes. Wtr. Sci. Tech. 21(3), 179-195.

[107] **Song, R., Westerhoff, P., Minear, R., Amy, G., 1997**. Bromate minimization during ozonation. J. Am. Water Works Assoc. 89, 69-78.

[108] **Srivastava, R.C., 1987**. Fish Mycopathology. Today & Tomorrow's printers and publishers. 106 pp.

[109] **Staehelin, J., Hoigne, J., 1985**. Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reaction. Environmental Science and Technology 19, 1206-1213.

[110] **Sugita, H., Asai, T., Hayshi, K., Mitsuya, T., Amanuma, K., Maruyama, C., Deguchi, Y., 1993**. Application of ozone disinfection to remove *Enterococcus seriolicida, Pasteurella pisicida*, and *Vibrio anguillarum* from seawater. Appl. Environ. Microbiol. 58, 4072-4075.

[111] **Summerfelt, S.T., 2003**. Ozonation and UV irradiation- an introduction and examples of current applications. Aquac. Eng. 28, 21-36.

[112] **Summerfelt, S.T., Hochheimer, J.N., 1997**. Review of ozone processes and applications as an oxidizing agent in aquaculture. Prog. Fish Cult. 59, 94-105.

[113] **Summerfelt, S.T., Hankins, J.A., Weber, A., Durant, M.D. 1997**. Ozonation of a recirculating rainbow trout culture system: II. Effects on microscreen filtration and water quality. Aquaculture 158, 57-67.

[114] **Sutterlin, A.M., Courier, C.Y., Devereaux, T., 1984**. A recirculating system using ozone for the culture of Atlantic salmon. Prog. Fish cult. 46, 239-244.

[115] **Tango, M.S., Gagnon, G.A., 2003**. Impact of ozonation on water quality in marine recirculation systems. Aquac. Eng. 29, 125-137.

[116] **Taylor, S.G., Bailey J.E., 1979**. Saprolegnia: control of fungus on incubating eggs of pink salmon by treatment withseawater. Prog. Fish Cult. 41, 181-183.

[117] **Tipping, J., 1988**. Ozone control of ceratomyxosis: survival and growth benefits to steelhead and cutthroat trout. Prog. Fish Cult. 50, 202-210.

[118] **Tipping, J., Kral, K.B., 1985**. Evaluation of a pilot ozone system to control *Ceratomyxa shasta* at the Cowlitz Trout Hatchery. Washington State Game Department, Bulletin 85-18, Olympia.

[119] **Toor, H.S., Sehgal, H., Sehdev, R.S., 1983**. A case study of acute fish diseases in tanks loaded with high levels of organic manures. Aquaculture 35, 277-282.

[120] **Vaughn, J.M., Chen, Y.S., Lindburg, K., Morales, D., 1987.** Inactivation of human and simian rotaviruses by ozone. Appl. Environ. Microbiol. 53, 2218-2221.

[121] **Veenstra, J.N., Barber, L.B., Khan, P.A., 1983**. Ozonation: its effects on the apparent molecular weight of naturally occurring organics and trihalomethane production. Ozone Sci. Eng. 5, 225-244.

[122] **Walser, C.A., Phelps, R.P., 1993**. The use of formalin and iodine to control *Saprolegnia* infections on channel catfish, *Ictalurus punctatus*, eggs. Journal of Applied Aquaculture 3, 269-278.

[123] **Waterstrat, P.R., Marking, L.L., 1995**. Clinical evaluation of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride for the treatment of *Saprolegnia parasitica* on fall chinook salmon eggs. Prog. Fish cult. 57, 287-291.

[124] **Watts, C.D., 1985**. Organic By-Products of Ozonation of Humic and Fluvic Acids. Proc. Intl. Conf. On the Role of Ozone in Water and Wastewater Treatment, edited by R. Perry and A.E. McIntyre. Selper Ltd., London.

[125] **Wedemeyer, G.A., 1996**. Physiology of Fish in Intensive Culture System. International Thompson Publishing, New York, pp. 219-226.

[126] **Wedemeyer, G.A., Nelson, N.C., 1977**. Survival of two bacterial fish pathogens (*Aeromonas salmonicida* and the Enteric Redmouth Bacterium) in ozonated, chlorinated, and untreated waters. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 34, 429-432.

[127] **Wedemeyer, G.A., Nelson, N.C., Yasutake, W.T., 1979.** Potentials and limits for the use of ozone as a fish disease control agent. Ozone Sci. Eng. 1, 295-318.

[128] **Weller, D.M., Cook, R.J., 1983.** Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonas. Phytopathology 73, 463-469.

[129] **Wheaton, F.W. 1977.** Aquacultural Engineering. John Wiley & Sons, New York.

[130] **Williams, R.C., Hughes, S.G., Rumesy, G.L., 1982**. Use of ozone in a water reuse system for salmonids. Prog. Fish cult. 44, 102-105.

[131] **Willoughby, L.G., 1978**. An abbreviated life cycle in the salmonid fish *saprolegnia*. Transaction of the British MycologicalSociety 69, 133-135.

[132] **Willougby, L.G., Roberts, R.J., 1992**. Towards strategic use of fungicides against *Saprolegnia parasitica* in salmonid fish hatcheries. Journal of Fish Diseases 15, 1-13.

[133] **Yoshimizu, M.H., et al., 1990**. Disinfectant effects of ultraviolet irradiation on fish pathogens in hatchery water supply. In: Hirano, R., Hanyu, I., (eds.), Second Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.

[134] **Yoshimizu, M., Sami, M., Kimura, T., 1989**. Survivability of infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) in fertilized eggs of masu *(Oncorhynchus masou)* and chum salmon *(O.keta)*. J. Aquat. Anim. Health 1, 13- 20.

[135] **Yoshimizu, M., Hyuga, S., Oh, M.J., Ezura, Y., Ito., S., Minura, G., 1995**. Disinfection effect of oxidant produced by ozontion of seawater on fish pathogenic viruses, bacteria, and ciliata. Dis. Asian Aquac. 1, 203-209.

Evaluation and comparison of ozone, hydrogen peroxide and physical treatment on fungal infection prevention and hatching rate of Iranian sturgeon (*Acipenser persicus*)

M.R. Ghomi*, A. Esmaili, G.H. Vosughi, A. Keyvan, R.M. Nazari

Abstract

Ozone due to having low half-life and devoid of environmental harmful effects is recognized as one of the most effective disinfectant and fungicide in aquaculture. The objective of this study is to consider the effects of periodicay ozonation, hydrogen peroxide treatment, and physical treatment capability in hatching rate enhancement. Three concentrations of 0.05, 0.1 and 0.15 ppm ozone (10 min) and peroxide hydrogen with dose of 500 and 1000 ppm in two procedures accompanied with physical treatment and without physical treatment were examined on hatching rate. In the first year, Egg ozonation (0.1 ppm) with physical treatment have been resulted the greatest hatching rate (81.4%). In the second year, egg treatment with 1000 ppm hydrogen peroxide with physical treatment have been showed the greatest hatching rate (78%). Average hatching rate for the blank control treatment (without disinfectin and physical treatment) was 32.7%. From the economic viewpoint, 0.05 ppm ozone with physical treatment, due to considerable minimizing at consumption energy and ozonation system retention costs, indicated as the best treatment than other ozone treatments for fungal control. Very low correlation (r=-0.14) have been observed between hatchery water temperature and fungal infection percentage in control treatment.

* *E-mail address:* **mghomi@tonekabon.iau.ac.ir**